

ISOLASI DAN SELEKSI BAKTERI BIOREMOVAL LOGAM BERAT MERKURI

Muhammad Badjoeri¹ dan Hafidh Zarkasyi²

¹Pusat Penelitian Limnologi LIPI

²Fakultas Sains dan Teknologi UIN Syarif Hidayatullah

Email: mbadjoeri@yahoo.com

ABSTRAK

Merkuri (Hg) adalah salah satu logam berat dan bahan pencemar yang berbahaya. Di Indonesia telah banyak ditemukan kasus pencemaran sungai oleh logam berat tersebut. Berbagai jenis bakteri diketahui mempunyai kemampuan menyerap logam berat dalam konsentrasi tertentu. Bioremoval logam berat dapat dilakukan dengan memanfaatkan bakteri penyerap logam berat, diantaranya *Pseudomonas*, *Leptotrix*, *Klebsiella*, *Citrobacter* dan *Bacillus*. Bakteri-bakteri tersebut dapat diperoleh dengan mengisolasi contoh dari lingkungan tercemar. Bagian hilir Sungai Cisadane salah satu lokasi yang tepat untuk mendapatkan koleksi isolat bakteri. Tujuan penelitian adalah mendapatkan isolat murni bakteri untuk agen bioremoval logam berat merkuri. Sampling air dan sedimen dilakukan di tiga titik, yaitu outlet limbah PT. Indah Kiat, bendungan baru dan Tanjung Burung di hilir Sungai Cisadane. Isolasi dan seleksi isolat bakteri dilakukan di Lab. Mikrobiologi Puslit Limnologi LIPI menggunakan metode pewarnaan, TPC dan AAS. Identifikasi bakteri dilakukan di Balitvet Bogor dengan uji biokimia. Telah berhasil diisolasi dan dikarakterisasi 4 isolat bakteri asal air dan 11 isolat asal sedimen. Hasil uji viabilitas (sensitifitas) bakteri pada media mengandung logam merkuri didapatkan 1 isolat terpilih (A.SI.3A) dan telah diidentifikasi adalah *Bacillus megaterium*. Hasil seleksi pada media yang mengandung logam merkuri menunjukkan *B. megaterium* mampu menyerap logam merkuri dalam media uji sampai konsentrasi yang tertinggi (20 mg/L) dengan efisiensi penyerapan mencapai 98,5 %. Bakteri *B. megaterium* berpotensi sebagai agen bioremoval logam berat merkuri.

Kata Kunci : isolasi, seleksi, bakteri, agen bioremoval, merkuri

ABSTRACT

Mercury (Hg) is one of heavy metals and harmful pollutants. In Indonesia have discovered many cases of river pollution by mercury. Various types of bacteria known to have the ability to absorb heavy metals in certain concentrations. Bioremoval heavy metals can be performed by use of heavy metal absorber bacteria, including *Pseudomonas*, *Leptotrix*, *Klebsiella*, *Citrobacter* and *Bacillus*. These bacteria can be obtained by isolating the sample from the contaminated environment. Cisadane River downstream is one of the suitable locations for a collection of bacteria isolates. The aimed is to obtain pure isolates of bacteria to bioremoval agents of mercury heavy metal. Water and sediment sampling conducted at three points, waste outlet PT. Indah Kiat, Bendungan baru and Tanjung Burung downstream of Cisadane River. Isolation and selection of bacteria were performed at the Laboratory of Microbiology Research Center for Limnology LIPI with staining, TPC and AAS method. Identification of bacteria was conducted in Institute of veterinary research Bogor with a biochemical test method. Have been isolated and characterized 4 isolates of water and 11 isolates of sediment. The result of bacteria viability test on medium containing mercury obtained 1 isolate of selected bacteria (A.SI.3A), and has been in the identification of the *Bacillus megaterium*. Results of selection in media containing mercury showed *B. megaterium* can absorb mercury in the test media to the highest concentration (20 mg / L) with the absorption efficiency 98,5%. *B. megaterium* potentially be used as bioremoval agent of mercury heavy metal.

Keywords: isolation, selection, bacteria, bioremoval agents, mercury

PENDAHULUAN

Meningkatnya aktivitas manusia, pertumbuhan penduduk, perkembangan perkotaan dan industri menyebabkan semakin meningkatnya limbah yang mengandung logam berat di lingkungan. Industri merupakan salah satu sumber penyumbang limbah paling banyak mengandung logam berat karena industri banyak menggunakan senyawa atau unsur yang mengandung logam berat, baik sebagai bahan baku, katalisator maupun sebagai bahan tambahan (Rai *et al.* 1981, ATSDR, 1999). Logam berat merupakan bahan pencemar berbahaya karena sifatnya yang tidak dapat didegradasi (*non degradable*) oleh mikroorganisme hidup di lingkungan, sehingga terakumulasi, terutama mengendap di dasar perairan membentuk senyawa kompleks bersama bahan organik dan anorganik secara proses kimiawi (Djuangsih *et al.* 1982).

Merkuri (Hg) salah satu dari jenis logam berat yang pada konsentrasi tertentu merupakan polutan berbahaya bagi organisme dan berdampak negatif bagi kesehatan manusia (Wild, 1995). Logam berat apabila terakumulasi didalam tubuh organisme dapat menghambat kerja enzim sehingga proses metabolisme terganggu, bahkan jadi pemicu dan penyebab alergi, mutagen, teratogen atau karsinogen bagi manusia (Vouk, 1986).

Secara alamiah bakteri dapat beradaptasi, hidup dan berkembang pada lingkungannya. Pada kolom air dan sedimen (*surface sediment*) yang banyak terakumulasi logam berat biasanya akan ditumbuhi oleh berbagai kelompok bakteri yang dapat memanfaatkan logam berat tersebut (Atlas & Bartha, 1993).

Beberapa jenis bakteri diketahui mempunyai kemampuan mereduksi atau menyerap logam berat (Bourquin, 1990). Pendekatan ini yang dijadikan dasar pengembangan penelitian *bioremoval* dengan memanfaatkan kemampuan aktivitas metabolisme bakteri. Menurut Evan dan Angga (2005) *bioremoval* adalah suatu keadaan ketika bahan pencemar terkonsentrasi dan terakumulasi di dalam material biologi dan material biologi tersebut mampu *recovery* polutan sehingga dapat dibuang dan ramah lingkungan. Menurut Suhendrayatna (2001) *bioremoval* lebih efektif dibandingkan proses *ion exchange* dan *reverse osmosis* dalam kaitannya dengan sensitifitas kehadiran padatan terlarut zat organik dan logam berat lainnya, serta lebih baik dari proses pengendapan (*sedimentation*) bila

dikaitkan dengan kemampuan menstimulasikan perubahan pH dan konsentrasi logam beratnya. Oleh karena itulah kajian mengenai bioremoval perlu dikembangkan dalam upaya menangani permasalahan kontaminasi logam berat di lingkungan, terutama pada sistem perairan.

Bourquin (1990) memanfaatkan bakteri setempat untuk bioremoval yang diisolasi dari perairan tercemar logam. Zeroual *et al.* (2001) dalam De Jaysankar, (2004) memanfaatkan beberapa jenis bakteri sebagai agen bioremoval logam berat, diantaranya dari genus *Pseudomonas*, *Leptotrix*, *Klebsiella*, *Citrobacter* dan *Bacillus*. Beberapa jenis dari *Pseudomonas* dan *Bacillus* adalah paling resisten terhadap logam berat di lingkungan (Satchanska *et al.* 2005). Wagner-Dobler *et al.*, (2000) melaporkan *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas stutzeri* dan *Pseudomonas fulva* dapat digunakan dalam proses bioremoval logam merkuri (Hg) secara *in vitro*. Cheung & Dong-Gu (2005) menggunakan bakteri *Bacillus megaterium* strain TKW3 hasil isolasi dari sedimen air laut yang terkontaminasi logam berat mampu mereduksi logam berat khrom (Cr) dan resisten terhadap logam Cr, Se dan As secara *in vitro*.

Menurut Suhendrayatna (2001) dan Evan & Angga (2005) mekanisme bioremoval melibatkan proses biologis dan kimiawi. Proses bioremoval logam berat terdiri dari proses *active uptake* dan *passive uptake*. Umumnya mekanisme bioremoval logam berat oleh mikroorganisme yaitu proses pertukaran ion, dirumuskan sebagai berikut: $A^{2+} + (B\text{-biomassa}) \longrightarrow B^{2+} + (A\text{-biomassa})$. Mekanisme ini dapat berlangsung dengan tiga cara yaitu berdasarkan metabolisme sel, posisi logam berat yang di-*remove* dan biosorpsi logam.

Tujuan dari penelitian ini untuk mendapatkan isolat bakteri terseleksi yang dapat digunakan sebagai agen bioremoval logam berat merkuri.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Pusat Penelitian Limnologi LIPI Cibinong, pada tahun 2007. Pengambilan contoh air dan sedimen sebagai sumber isolat bakteri dilakukan di perairan Sungai Cisadane, pada tiga titik sampling yaitu: 1). Outlet limbah PT. Indah Kiat Tangerang, 2). Bendungan Baru Cisadane, dan 3) Tanjung Burung (dekat muara sungai). Sampling air

sebanyak ± 250 ml menggunakan *water sampler*, sedangkan sampling sedimen sebanyak ± 10 gram menggunakan *ekman grab*. Contoh air dan sedimen selanjutnya disimpan dalam *cooling box* untuk dianalisa di laboratorium.

Pengayaan bakteri dengan cara menginokulasi contoh air atau sedimen pada media cair *nutrient broth* (NB), inkubasi 24 jam pada suhu kamar. Isolasi bakteri menggunakan metode *streak plate* dan *spread plate* dengan pengenceran sampai 10^{-6} pada media *nutrien agar* (NA) sampai didapatkan koloni yang terpisah (Cappuccino & Sherman, 1987). Parameter yang diamati antara lain morfologi koloni, uji pewarnaan Gram, morfologi sel bakteri, uji sensitifitas dan uji kemampuan bakteri penyerapan logam berat merkuri pada konsentrasi tertentu, dan identifikasi bakteri dengan uji biokimia di Balai Penelitian Penyakit Ternak-Bogor.

Uji sensitifitas bakteri pada media mengandung logam Hg: Isolat yang diuji ialah isolat bakteri A.SI.3A (dari contoh air) dan isolat SIII 5.1.2 (dari contoh sedimen). Masing-masing isolat diinokulasikan pada media NB yang mengandung logam Hg dengan konsentrasi 1,5, 3, 5, 7 dan 10 mg/L, inkubasi 24 jam pada suhu kamar di atas *shaker* (kecepatan 100 rpm). Pengamatan pertumbuhan bakteri dengan mengukur *optical density* (OD) pada spektrofotometer dengan panjang gelombang (λ) 600 nm pada kultur berumur 0 jam dan 24 jam.

Uji kemampuan penyerapan: Isolat bakteri A.SI.3A di uji kemampuannya dalam menyerap ion logam Hg pada media NB mengandung logam Hg sesuai konsentrasi perlakuan (10, 15 dan 20 mg/L). Kepadatan bakteri yang diinokulasikan 10^3 upk/ml, dan sebagai kontrol media NB yang tidak diinokulasikan bakteri, dengan 3 kali ulangan. Analisa logam Hg menggunakan metoda AAS (*Atomic Absorption Spectrophotometry*). Penghitungan jumlah logam Hg yang terserap berdasarkan Csuros & Csuros (2002), yaitu : $C_b = C_o - C_{eq}$

C_b = jumlah logam Hg yang terserap bakteri (mg/L)
 C_o = konsentrasi awal logam Hg dalam media (mg/L)
 C_{eq} = konsentrasi akhir logam Hg dalam media (mg/L)

Pengukuran efisiensi penyerapan logam oleh bakteri menggunakan rumus:

$$R = \frac{C_o - C_{eq}}{C_o} \times 100\%$$

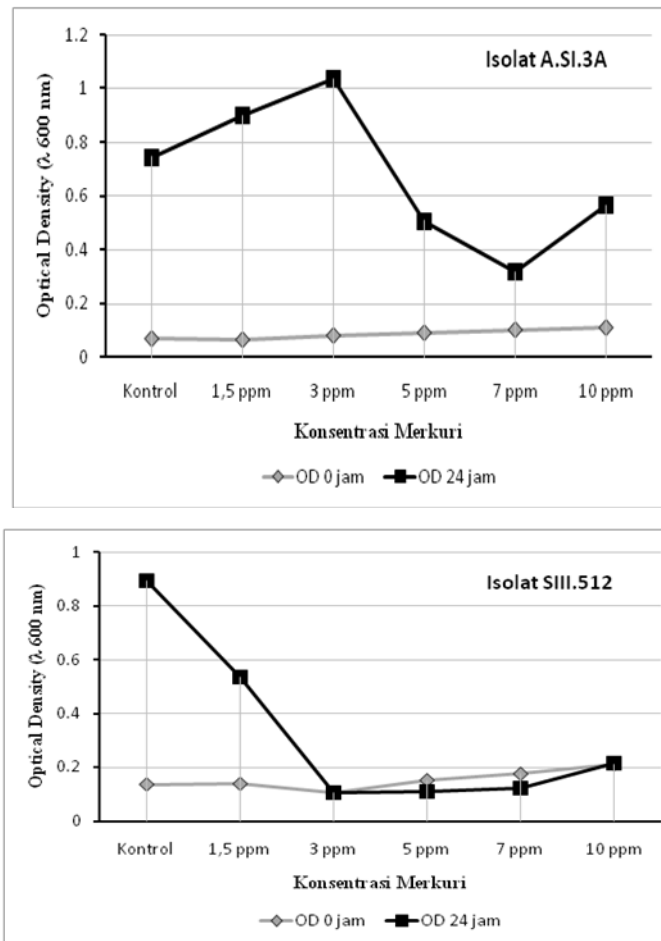
R = Efisiensi penyerapan logam (%)
 C_o = konsentrasi awal logam Hg dalam media (mg/L)
 C_{eq} = konsentrasi akhir logam Hg dalam media (mg/L)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berhasil diisolasi 15 isolat murni, sebanyak 4 isolat berasal dari contoh air dan 11 isolat dari contoh sedimen. Hal ini menunjukkan bahwa air ataupun sedimen merupakan sumber isolat yang potensial untuk mendapatkan koleksi isolat bakteri. Keberadaan bakteri di suatu habitat pada umumnya sangat dipengaruhi oleh ketersediaan nutrisi dan faktor fisik-kimia di lingkungannya. Lebih banyaknya isolat bakteri yang didapatkan dari sedimen diduga karena pada sedimen terjadi akumulasi bahan organik yang merupakan sumber nutrisi bagi bakteri sehingga berbagai jenis bakteri dapat hidup. Hal ini sesuai dengan penelitian Rheinheimer (1985) yang melaporkan bahwa perbandingan jumlah bakteri (bakteri nitrifikasi) yang ditemukan di air dan di sedimen adalah 1: 2.

Hasil uji sensitifikasi isolat bakteri A.SI.3A dan S III 5.1.2 pada media mengandung logam merkuri menunjukkan ke 2 isolat uji mampu beradaptasi dan dapat hidup sampai konsentrasi 10 ppm selama 24 jam (Gambar 1). Uji anova menunjukkan sensitivitas bakteri A.SI.3A dan S III 5.1.2 tidak berbeda nyata ($p = 0,547$; $\alpha = 0,05$) pada media yang mengandung Hg 1,5 sampai 10 ppm.

Berdasarkan hasil analisa kedua isolat uji mempunyai kemampuan adaptasi yang berbeda (Gambar 1). Apabila dibandingkan terlihat isolat bakteri A.SI.3A mempunyai daya adaptasi lebih baik dibanding isolat S III 5.1.2. Perbedaan kemampuan kedua isolat bakteri tersebut diduga berhubungan dengan karakteristik dari bakteri tersebut, maka isolat A.SI.3A dijadikan isolat terpilih untuk uji penyerapan logam merkuri. Menurut Nofiani dan Gusrizal (2004) dan Smith *et al.* (1998) mikroorganisme mempunyai kemampuan adaptasi dan daya sensitivitas yang berbeda-beda dan perbedaan ini berhubungan dengan mekanisme respon bakteri terhadap stress merkuri, yaitu: 1) Penghambatan proses metabolisme sel sehingga pertumbuhan sel lambat atau sel mati. 2) Menginduksi sistem operon resisten merkuri untuk bekerja sehingga sel tetap hidup dalam kondisi stres, dan 3) Adanya plasmid yang mengandung gen resisten merkuri di dalam sel bakteri.



Gambar 1. Uji sensitifitas isolat bakteri selama 24 jam pada media yang mengandung merkuri dengan konsentrasi yang berbeda

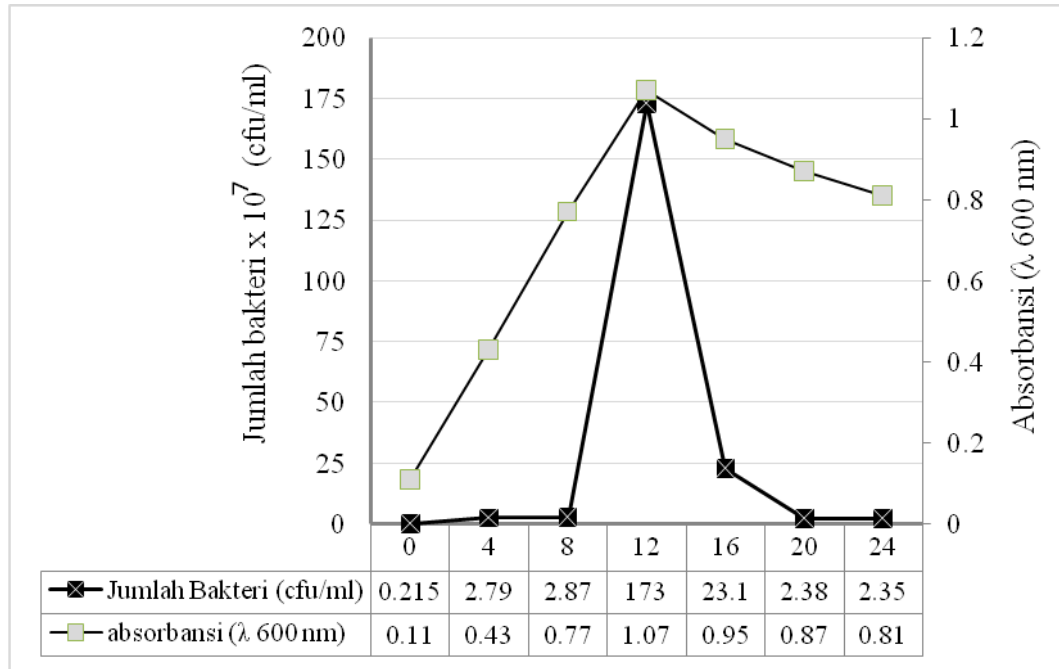
Bakteri mampu bertahan hidup pada lingkungan yang mengandung logam merkuri karena bakteri memiliki *mer operon* (gen resisten merkuri) (Silver dan Phung 1996), namun setiap jenis bakteri mempunyai struktur *mer operon* berbeda. Umumnya struktur *mer operon* terdiri dari gen metaloregulator (*merR*), gen transport merkuri (*merT*, *merP*, *merC*), gen merkuri reduktase (*merA*) dan organomerkuri liase (*merB*), (De 2004). Bakteri yang memiliki *merA* disebut bakteri resisten merkuri spektrum sempit. Beberapa bakteri selain memiliki protein merkuri reduktase (*merA*) juga memiliki protein organomerkuri liase (*merB*) yang berfungsi dalam mengkatalisis pemutusan ikatan merkuri-karbon sehingga dihasilkan senyawa organik dan ion Hg yang berupa garam tiol. Bakteri yang memiliki *merA* dan *merB* disebut bakteri resisten merkuri spektrum luas (Silver dan Phung 1996, Smith *et al.* 1998; De Jaysankar, 2004).

Uji reaksi pewarnaan *Gram* dari 4 isolat bakteri asal air didapatkan 2 isolat *Gram negatif* dan 2 isolat *Gram positif*, sedangkan isolat asal sedimen didapatkan 5 isolat *Gram negatif* dan 6 isolat *Gram positif*. Menurut Pelczar dan Chan (1986) adanya perbedaan komposisi bahan penyusun dinding sel bakteri inilah yang menyebabkan terjadinya reaksi *Gram*. Bakteri *Gram positif* mempunyai dinding sel tebal (15 – 80 nm), berlapis tunggal dengan kandungan lipid rendah (1 – 4 %). Rendahnya kandungan lipid pada dinding sel menyebabkan mudah terdehidrasi, pada pembilasan dengan alkohol menyebabkan pori-pori dinding sel mengecil dan permeabilitasnya jadi berkurang sehingga senyawa kompleks *Crystal violet-Yodium* (CV-I) tidak terekstraksi dan warna ungu dari *crystal violet* terperangkap didalam dinding sel (reaksi *Gram positif*). Bakteri *Gram negatif* mempunyai dinding sel tipis (10 – 15 nm) dan berlapis tiga dengan kandungan lipid yang tinggi (11 – 22 %). Pembilasan dengan alkohol menyebabkan lipid terekstraksi sehingga pori-pori dinding sel membesar dan CV-I yang telah terbentuk dan memasuki dinding sel dapat terekstraksi, maka warna ungu menjadi hilang dan yang tertinggal warna merah dari safranin di dalam dinding sel (*Gram negatif*). Hasil identifikasi bakteri secara biokimia isolat bakteri A.SI.3A adalah *Bacillus megaterium* (Tabel Lampiran 1).

Pertumbuhan isolat bakteri A.SI.3A pada masa inkubasi dari 0 – 8 jam diperkirakan masih pada fase adaptasi karena pertumbuhan sel relatif lambat ($2,15 \times 10^6$ cfu/ml sampai $2,87 \times 10^7$ cfu/ml) dan masih menyesuaikan diri dengan lingkungannya. Pada masa inkubasi > 8 – 12 jam pertumbuhan bakteri diperkirakan sudah memasuki fase eksponensial, terlihat dari pertumbuhan sel meningkat menjadi $1,73 \times 10^9$ cfu/ml. Menurut Pelczar & Chan (1986) pertumbuhan sel bakteri akan meningkat mejadi dua kali lipat pada fase eksponensial. Setelah memasuki masa inkubasi >12 jam telah memasuki fase kematian, hal ini terlihat pertumbuhan sel mengalami penurunan drastis. Menurut Brock & Madigan (1991), Volk & Wheeler (1993) pada fase kematian pertumbuhan sel terhenti dan bakteri sudah menghabiskan energi cadangan ATP untuk respirasinya (Gambar 2).

Interval pengamatan pola pertumbuhan bakteri setiap 4 jam yang dilakukan pada penelitian ini terlihat masih terlalu panjang, hal inilah yang menyebabkan

fase pertumbuhan stasioner bakteri tidak teramati. Pada fase pertumbuhan stasioner, pertumbuhan bakteri mendatar dimana jumlah sel yang baru berimbang dengan jumlah sel yang mati (Pelczar dan Chan, 1986)

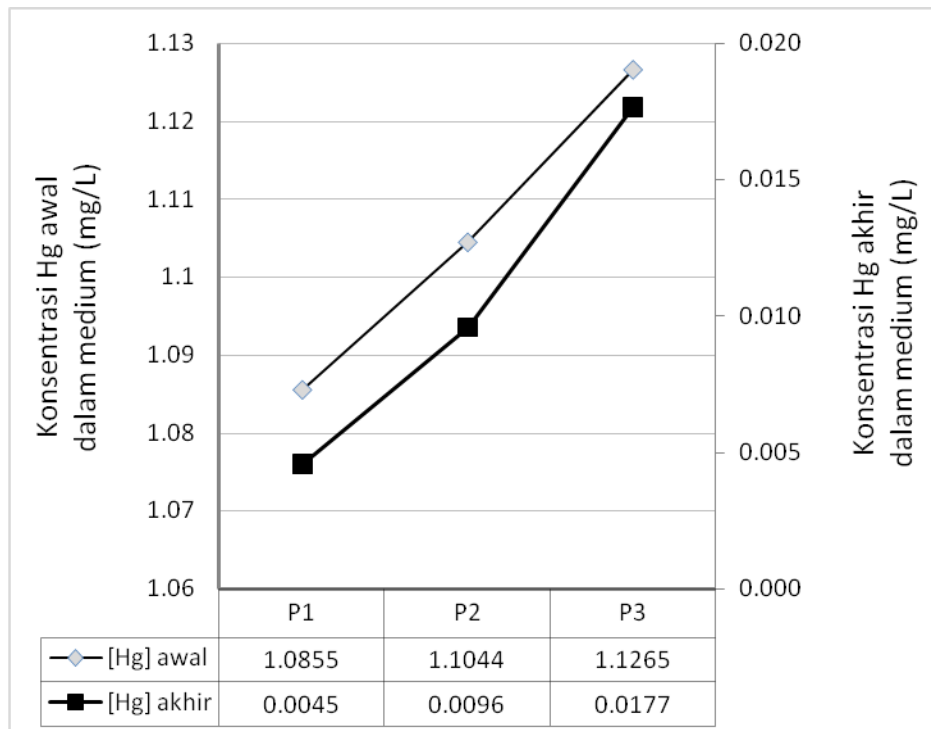


Gambar 2. Pola pertumbuhan isolat A.SI.3A inkubasi selama 24 jam

Pada uji penyerapan logam Hg ditemukan adanya pengaruh media bakteri NB (berupa bahan organik atau anorganik) terhadap senyawa logam Hg yang dimasukkan dan menyebabkan turunnya konsentrasi logam Hg dalam media uji. Konsentrasi Hg pada media dengan konsentrasi Hg 10 mg/l menjadi 1,0855 mg/l (perlakuan 1), media Hg 15 mg/l menjadi 1,1044 mg/l (perlakuan 2) dan media Hg 20 mg/l menjadi 1,1265 mg/l (perlakuan 3). Turunnya konsentrasi logam Hg diduga karena media bakteri yang terdiri dari bahan organik maupun anorganik mempunyai kemampuan untuk mengikat atau bereaksi dengan berbagai jenis logam. Menurut Buffle dan Stumm (1994) beberapa senyawa organik seperti polisakarida, protein dan humat dapat bereaksi dengan ion-ion logam melalui reaksi redoks atau reaksi pengikatan yang membentuk senyawa kompleks organik-logam, namun reaksi pengikatan bahan organik terhadap logam tersebut sangat bervariasi dan dipengaruhi oleh faktor lingkungannya. Menurut Sigg (1994) logam Hg pada konsentrasi tertentu mampu berikatan dengan senyawa S-

organik atau N-organik, sedangkan menurut Zumstein & Buffle (1989) logam Hg apabila terdapat di air mempunyai kecenderungan yang kuat untuk berikatan dengan senyawa protein dan menjadi partikel yang mengendap. Fenomena inilah yang diduga terjadi pada penelitian ini, dimana terjadi pengikatan ion logam Hg oleh media uji yang digunakan sehingga terjadi penurunan konsentrasi Hg pada media perlakuan.

Isolat bakteri *B. megaterium* mampu menyerap logam Hg sehingga menurunkan konsentrasi logam merkuri yang terkandung di dalam semua media perlakuan (Gambar 3).



Gambar 3. Kemampuan bakteri A.SI.3A menurunkan konsentrasi logam Hg dalam medium uji

Kemampuan peyerapan *B. megaterium* terhadap logam Hg pada media dengan konsentrasi Hg 1,0855 mg/L turun menjadi 0,0045 mg/L (99,58 %). Pada media dengan konsentrasi Hg 1,1044 mg/L menjadi 0,0096 mg/L (99,14 %), dan pada media dengan konsentrasi Hg 1,1265 mg/L menjadi 0,0177 mg/L (98,46 %), (Gambar Lampiran 1). Hal ini diduga karena komposisi membran sel bakteri terdiri bahan organik dan anorganik sehingga terjadi pengikatan ion logam Hg dengan membran sel bakteri. Menurut Rogers *et al.* (1980 dalam Bachofen 1994)

membran sel bakteri terdiri dari protein (58 – 75%), lipid (20 – 28 %), heksosa (0,2 – 8,0 %) dan asam ribo nukleat (1,2 – 5,1 %).

Proses penyerapan ini terjadi secara simultan sejalan dengan konsumsi ion logam untuk aktivitas metabolisme dan pertumbuhan bakteri, serta akumulasi intraselular ion logam tersebut (Nakajama & Sakaguchi 1998, Cossich *et al.* 2002, Joshi, 2003). Kemampuan bakteri *Bacillus. Megaterium* menyerap logam berat merkuri, didukung oleh hasil penelitian Cheung dan Dong-Gu (2005) yang melaporkan bakteri *B. megaterium* strain TKW3 mampu mereduksi logam berat Chrom (Cr) dan resisten terhadap logam chrom (Cr), selenium (Se) dan arsen (As) secara *in vitro* dan penelitian Gadd (1992) yang melaporkan *B. megaterium* salah satu jenis bakteri yang mempunyai gen resisten merkuri (mer operon) dan enzim *mercury reductase* (*MerA*) yang dapat mereduksi Hg^{2+} menjadi Hg^0 .

KESIMPULAN

1. Berhasil diisolasi sebanyak 15 isolat bakteri dari perairan hilir Sungai Cisadane, dan hasil seleksi didapatkan 1 isolat yang berpotensi dijadikan sebagai agen bioremoval logam berat merkuri.
2. Isolat bakteri *A.SI.3A* (*Bacillus megaterium*) mampu menyerap logam merkuri dengan efisiensi penyerapan mencapai 98 %, dengan waktu optimal untuk mengaplikasikan setelah masa inkubasi > 8 jam.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada Bapak Muhammad Suhaemi Syawal, Ibu Awalina, Sdri. Sekar Larashati dan Ibu Sugiarti yang telah banyak membantu kegiatan penelitian ini

DAFTAR PUSTAKA

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 1999. <http://www.atsdr.cdc.gov>
- Atlas, R. M and R. Bartha. 1998. *Microbial Ecology Fundamentals and application*. 4th ed. Benjamin/Cummings Science Publishing, California. 694 p.

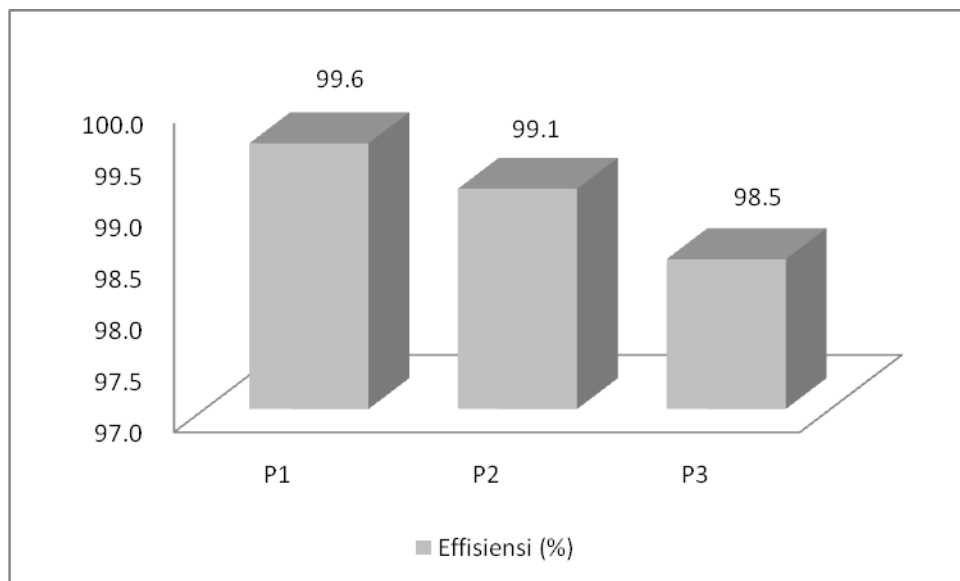
- Bachofen, R. 1994. Cell Structure and Metabolism, and its Relation with the Environment. In: *Chemical and Biological Regulation of Aquatic Systems*. J, Buffle. De Vitre.R.R. Lewis Publishers, Tokyo. p 231-233.
- Bourquin, A. W. 1990. *Bioremediation of Hazardous Waste Biofutur*. p 24 – 35.
- Brock, T.D and M.T. Madigan. 1991. *Biology of Microorganism* (6th Ed). Prentice-Hall International Inc, New Jersey.
- Buffle, J. and W. Stumm. 1994. General Chemistry of Aquatic Systems. In: *Chemical and Biological Regulation of Aquatic Systems*. Buffle, J. & R. De Vitre (Eds). Lewis Publishers, Tokyo. p 1- 42.
- Cappucino, J.G and Sherman, N. 1987. *Microbiology : A Laboratory Manual*. The Benjamin and Cumming Publishing Company Inc, California.
- Cheung, K.H. and Ji-Dong Gu. 2005. Chromate Reduction by *Bacillus megaterium* TKW 3 Isolated From Marine Sediments. *World Jurnal of Microbiology and Biotechnology*. 21 (3) : 213-219.
- Cossich, E. S., C.R.G. Tavares and T.M.K. Ravagnani. 2002. Biosorption of chromium(III) by *Sargassum* sp. *Biomass*. 5 (2).
- Csuros, M. and C. Csuros. 2002 Cold Vapour AAS for Solid and Semi Solids. In *Environmental Sampling and Analysis for Metals*. Lewis Publishers, Tokyo. p 149.
- De Jaysankar. 2004. Mercury-resistant Marine Bacteria and Their Role in Bioremediation of Certain Toxicants. *Thesis*. National Institute of Oceanography Goa University, India.
- Djuangsih, N., A.K. Benito, H. Salim. 1982. Aspek Toksikologi Lingkungan, *Laporan Analisis Dampak Lingkungan*. Lembaga Ekologi Universitas Padjadjaran, Bandung.
- Evan, P. S. dan Angga, P. J. 2005. Bioremediasi, Metode Alternatif untuk Menanggulangi Pencemaran Logam Berat. <http://www.chem-is-try-org>. 27 Juni 2007.
- Gadd, G. M. 1992. Metal Tolerance. In *Microbial Control Pollution*. Fry, J. C., Gadd, G. M., Herbert, R. A., Jones, R. W. and Watson-Craik, I. A. (Eds). Society for General Microbiology Symposium Cambridge University Press, UK.
- Joshi, N. 2003. Biosorption of Heavy Metals. *Thesis*. Department of Biotechnology and Environmental Sciences. Thapar Institute of Engineering Technology. Patiala.
<http://www.dspace.tiet.ac.in/bitstream/123456789/280/1/91860.pdf>

- Nakajama A., and Sakaguchi T. 1998. Advances in Biosorption of Heavy-Metals. *Trends in Biotechnology*. 16 : 291-300.
- Nofiani, R. dan Gusrizal. 2004. Bakteri Resistensi Sempit dari Daerah Bekas Penambangan Emas Tanpa Izin (PETI) Mandor, Kalimantan Barat. *Jurnal Natur Indonesia* 6(2): 67-64.
- Pelczar, M.J. dan E.C.S. Chan. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, alih bahasa Ratna SH, dkk. Penerbit UI Press, Jakarta.
- Rai, L.L., J.P. Gaur and H.D. Kumar, 1981. *Physiology and Heavy Metal Pollution*. In *Biological Review of The Physiology Society*. Cambridge University Press. London.
- Rheinheimer, G. 1985. *Aquatic Microbiology*. 3rd (ed.). John Wiley & Sons. Chichester. 257 p.
- Satchanska, G, E.N. Pentcheva, R. Atanasova., V. Groudeva, R. Trifonova and E. Golovinsky. 2005. Microbial Diversity in Heavy-Metal Polluted Waters. *Environmental Biotechnology*. 19(3) : 61-67.
- Sigg, L. 1994. Regulation of Trace Elements in Lakes: The Role of Sedimentation. In: *Chemical and Biological Regulation of Aquatic Systems*. J. Buffle, De Vitre, R.R. Lewis Publishers, Tokyo. p 176-180.
- Silver, S. and Phung, L.T. 1996. Bacterial Heavy Metal Resistance: new surprises. *Annual. Rev. Microbiol.* 50: p753-789.
- Smith, E., Wolters, A. and Elsas, J.D.V. 1998. Self Transmissible Mercury Resistance *Plasmids* with Gene Mobilizing Capacity in Soil Bacteria Populations: influence of wheat roots and mercury addition. *Appl. Environment. Microbiol.* 64 : 1210-1219.
- Suhendrayatna. 2001. Bioremoval Logam Berat dengan Menggunakan Mikroorganisme : Suatu Kajian Kepustakaan. Institute for Science and Technology Studies (ISTECS). Japan. <http://www.mail-archive.com>. 17 Maret 2007. pkl. 16.07 WIB.
- Volk, A. Wesley. dan M.F. Wheeler. 1986. *Mikrobiologi Dasar*. Edisi Kelima, Jilid 2 alih bahasa Soenartono A. Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Vouck. 1986. *General Chemistry of Metal. Handbook on the Toxicology of Metal*. Elsevier. New York.
- Wagner-Dobler, I, H.V. Canstein, Y. Li, K. N. Timmis, and W.D. Deckwer. 2000. Removal of Mercury from Chemical Wastewater by Microorganisms in Technical Scale. *Environmental Science*. 34.

- Wild, A. 1995. *Soils and The Environment : An Introduction*. Cambridge University Press. Cambridge, Great Britain.
- Zumstein, J. and J. Buffle. 1989. Circulation of Pedogenic and Aquagenic Organic Matter in Eutrophic Lake. *Water Res.* 123 : 219-239.

Lampiran 1. Hasil uji biokimia isolat bakteri A.SI.3A yang diambil dari contoh air sungai Cisadane

Kode Isolat	Uji Biokima	Hasil	Keterangan
A.SI.3A	Katalase Oksidase Acid from glucose Methyl Red Voges Proskauer (VP) Citrat Nitrat reduction Haemolysis (blood agar) Growth at 45 °C Arabinose Glucose Manitol Xylose	Positif (+) Negatif (-) Positif (+) Negatif (-) Negatif (-) Positif (+) Negatif (-) gas Positif (+) Positif (+) d Positif (+) Positif (+) d Positif (+) Negatif (-)	Motode: Holt.J.G. et al 1994. Bergeys Manual of Determinative Bacteriology. 9 th ed. William & Wilkins, 428 pp. East Preston Street. Baltimore.USA.
Hasil identifikasi : <i>Bacillus megaterium</i>			



Gambar Lampiran 1. Efisiensi Penyerapan *B. megaterium* pada Media Uji yang mengandung logam Merkuri.