

Bioakumulasi dan Aktivitas Resistensi Logam Timbal (Pb) terhadap *Streptomyces* sp. strain I18

Bioaccumulation and Resistance Activity of Lead by Streptomyces sp. strain I18

Mutia Dinda Lestari¹, Mesy Miranda AR¹, Ulin Ni'mah Setiawati¹, Nismah Nukmal¹, Endah Setyaningrum¹, Achmad Arifiyanto¹, Titik Nur Aeny²

¹Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung

²Jurusan Proteksi Tanaman Fisik, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung

*Email korespondensi: mutiadindalestari9@gmail.com

ABSTRAK

Kegiatan antropogenik secara intensif mengakibatkan pencemaran lingkungan yang disebabkan oleh logam berat. Timbal (Pb) merupakan salah satu logam berat toksik. Tingkat toksisitas dapat diturunkan melalui proses bioakumulasi oleh mikroorganisme. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri *Streptomyces* sp. strain I18 dalam mengakumulasi logam Pb. Bakteri diidentifikasi morfologi secara makroskopik dan mikroskopik. Daya resistensi bakteri terhadap logam Pb ditentukan dengan menumbuhkan bakteri pada media *Muller-Hilton Agar* yang disuplementasi Pb pada konsentrasi 5, 50, dan 150 ppm menggunakan metode dilusi pada cawan petri petri. Bioakumulasi bakteri terhadap logam Pb diukur menggunakan *Atomic Absorption Spectroscopy* (AAS) pada konsentrasi 5, 50, dan 150 ppm. Bakteri *Streptomyces* sp. strain I18 mampu tumbuh pada media padat agar mengandung logam Pb pada bagai konsentrasi dengan diameter koloni terbesar, yakni 50.33 mm pada konsentrasi Pb 5 ppm. Pertumbuhan koloni terkecil sebesar 33.00 mm terjadi pada konsentrasi 150 ppm. Bakteri ini terbukti mampu mengakumulasi logam Pb dengan akumulasi terbesar pada konsentrasi 5 ppm, sebesar 49%. Peningkatan konsentrasi logam menurunkan kemampuan akumulasi logam Pb. Pada konsentrasi 150 ppm dan 50 ppm, bakteri hanya mampu mengakumulasi Pb sebesar 5% dan 9%. Kemampuan optimal bakteri *Streptomyces* sp. strain I18 sebagai bioakumulator diperkirakan pada konsentrasi kurang dari 50 ppm.

Kata kunci: bioakumulasi, Pb, resistensi, *Streptomyces*

ABSTRACT

Antropogenic activity intensively can cause environmental pollution by heavy metals. Lead is one of toxic heavy metal. Level of toxicity can be decreased with bioaccumulation by microorganisms. This research conducted to know the ability of bacteria Streptomyces sp. strain I18 to accumulate lead. The morphological of bacteria was identified by microscopic and macroscopic. Bacterial resistance of lead has been known by growing bacterial in Muller-Hilton Agar supplemented lead in concentration 5, 50, and 150 ppm uses dilution plate method. Biaccumulation of bacteria against lead measured by Atomic Absorption Spectroscopy (AAS). Streptomyces sp. strain I18 can grow in solid agar media contains lead in various concentration. The highest diameter of colony 50.33 mm measured in media combined lead concentration 5 ppm. The lowest growth of colony is 33.00 mm in lead concentration of 1000 ppm. These bacteria are proven that can accumulate lead with the highest accumulation reached 49% in concentration of 5 ppm. The concentration of 150 and 50 ppm can accumulate lead reached 5% and 9%. Optimal ability of bacteria Streptomyces sp. strain I18 as bioaccumulator supposed in concentration of less than 50 ppm.

Keywords: bioaccumulation, lead, resistance, *Streptomyces*

PENDAHULUAN

Kegiatan industrialisasi dan pertanian (antropogenik) dapat mengakibatkan pencemaran air dan tanah secara intensif. Salah satu kontaminan yang paling sering mencemari adalah logam dengan toksisitas yang tinggi (Plouffe *et al.*, 2015). Logam berat tidak terdegradasi di lingkungan dan menyebabkan tekanan seleksi secara luas dalam waktu yang lama (Baker *et al.*, 2019).

Penanganan logam berat secara fisika dan kimia membutuhkan biaya yang mahal dan belum dapat dipastikan keefektifannya (Volskey, 2013). Berdasarkan kemampuan mikroorganisme secara biologis, dapat mengurangi tingkat toksisitas logam yang lebih hemat biaya dan memiliki efek minimal (Kaduková & Virčíková, 2005)

Ion logam umumnya diremediasi oleh mikroba melalui biosorpsi dan bioakumulasi (Thavasi *et al.*, 2009). Bioakumulasi merupakan proses akumulasi ion-ion logam secara intraseluler melewati membran sel dan siklus metabolisme sel. Sedangkan pada metode biosorpsi, organisme yang telah mati seperti protein dan alga akan mengambil ion-ion logam (Romero *et al.*, 2006).

Streptomyces telah diketahui menjadi salah satu mikroorganisme yang dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder dengan berbagai potensi. *Streptomyces* sp. berpotensi sebagai biosorpsi Pb yang dihasilkan akibat limbah industri (Suthindhiran & Kannabiran, 2009).

Penelitian ini menggunakan koleksi *Streptomyces* di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji kemampuan bakteri *Streptomyces* sp. strain I18 dalam biosorpsi logam Pb. Tingginya kadar Pb akibat limbah industri di perairan laut Indonesia dapat merusak manusia melalui kulit dan pernapasan serta makanan yang bersumber dari laut. Maka dari itu *Streptomyces* sp. strain I18 dapat menjadi salah satu referensi dalam menyerap logam Pb melalui biosorpsi.

BAHAN DAN METODE

Medium Pertumbuhan

Medium yang digunakan adalah ISP 4 (*starch soluble*, 10 g; K₂HPO₄, 1 g; MgSO₄, 7H₂O, 1 g; NaCl, 1 g; (NH₄)₂SO₄, 2 g; CaCO₃, 2 g; agar, 20 g; H₂O, 1000 ml, pH 7.2), *Muller Hinton Agar* (MHA), *Nutrient Agar* (NA) dan *Nutrient Broth* (NB).

Penyiapan Inokulum

Isolat *Streptomyces* sp strain I18 dikultur pada cawan petri dan agar miring ISP4. Inkubasi selama kurang lebih satu minggu pada suhu ruang (26-28°C). Isolat pada cawan petri digunakan untuk identifikasi morfologi, sedangkan pada agar miring diinokulasi dalam media NB sebagai sumber nutrisi dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 26-28°C.

Karakterisasi Morfologi

Identifikasi *Streptomyces* sp. strain I18 dilakukan secara makroskopik dan mikroskopik. Pengamatan makroskopik dengan melihat bentuk, tepi, dan warna koloni. Sedangkan untuk pengamatan mikroskopik melakukan pewarnaan Gram pada inokulum media NB. Hasil pengecatan diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000x yang terlebih dahulu ditetes *emersi oil*. Identifikasi ini bertujuan untuk melihat morfologi koloni bakteri secara langsung maupun mikroskopik pada tingkat genus.

Penyiapan Larutan Logam

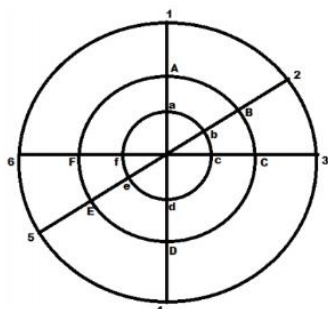
Logam PbNO₃ 0.15 g dilarutkan dalam volume HNO₃ kurang lebih 10 ml dan dipanaskan dengan menggunakan *hotplate* dalam erlenmeyer 100 ml. Ditambahkan 10 ml akuades dan dipanaskan kembali. Setelah itu, ditambahkan akuades hingga batas erlenmeyer. Kemudian dibuat konsentrasi 10 dan 100 ppm dengan rumus pengenceran.

Metode Zona Hambat

Media MHA 15-20 ml dituang kedalam cawan petri. Setelah padat, ditambahkan 100 µL larutan logam sesuai konsentrasi (10, 100, 1000 ppm) dengan metode *spread*. Kemudian letakkan 1 ose isolat *Streptomyces*

sp. strain I18 pada tengah cawan petri petri. Diinkubasi pada suhu 28°C selama 24 jam dan dihitung diameter zona hambat di sekitar koloni bakteri (Putri et al., 2021). Rumus perhitungan diameter zona hambat sebagai berikut.

$$\frac{(A-a)+(B-b)+(C-c)}{3} \dots\dots\dots(1)$$



Keterangan:
 ABCDE: diameter zona jernih (mm)
 abcde : diameter koloni (mm)

Uji Bioakumulasi Logam Pb (Pb)

Inokulum *Streptomyces* sp. strain I18 yang telah divortex sebanyak 3 ml dicampurkan logam Pb sebanyak 12 ml. Kemudian diinkubasi ke dalam incubator shaker selama 24 jam pada suhu 28°C dengan kecepatan 120 rpm. Sentrifugasi dengan kecepatan 3,000 rpm selama 5 menit untuk memperoleh cairan supernatan. Kemudian supernatan diambil untuk dianalisis menggunakan Atomic Absorption Spectroscopy (AAS). Penurunan kandungan logam dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$as = (1 - \frac{Cs}{Co}) \times 100\% \dots\dots\dots(2)$$

Keterangan:
 as = persentase penurunan logam (%)
 Cs = konsentrasi akhir logam (ppm)
 Co = konsentrasi awal logam (ppm)

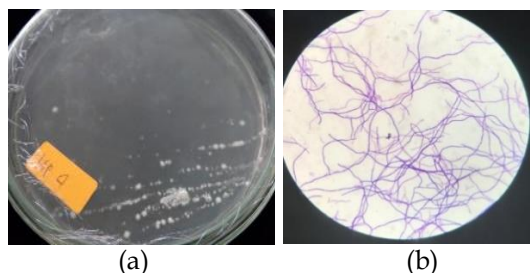
HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Morfologi

Morfologi koloni bakteri secara makroskopik berbentuk *circular*, berukuran kecil dan *chulky*. Koloni berwarna putih bertepung dengan tepi koloni bakteri *entire*, yaitu tepian rata. Elevasi diamati dari kedalaman pertumbuhan koloni bakteri terhadap media, yaitu *raised* atau bentuk

rata tetapi sedikit terlihat kedalaman koloni pada media dibagian tengah.

Isolat bakteri dilakukan pengecatan Gram yang menunjukkan hasil Gram positif ditandai dengan warna koloni. Pada pengecatan Gram, hasil ditentukan dari warna bakteri pada mikroskop. *Streptomyces* sp. strain I18 adalah bakteri Gram positif dengan hasil pengecatan Gram berwarna ungu. Bakteri bercabang-cabang panjang dan berbentuk seperti benang (Gambar 1a dan 1b).



Gambar 1. Morfologi koloni *Streptomyces* sp. strai I18 secara (a) makroskopik; (b) mikroskopik

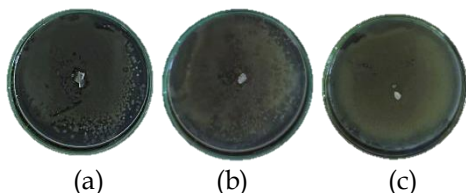
Koloni *Streptomyces* sp. memiliki karakter miselium aerial dan substrat berwarna putih, kuning muda, hingga berpigmen, bentuk koloni sirkular, elevasi koloni raised, permukaan koloni bertepung atau *powdery* (Akbar et al., 2017). Menurut Al-Saadi & Mohammad Jaralla (2013), *Streptomyces* sp. sebagian besar merupakan bakteri Gram positif berfilamen panjang yang tumbuh secara aerob.

Metode Zona Hambat

Pada berbagai tingkat konsentrasi menunjukkan zona hambat yang berbeda. Semakin tinggi konsentrasi maka zona hambat akan semakin kecil. Pada Tabel 1. diameter zona hambat terbesar pada konsentrasi 5 ppm, yakni 50.33 cm. Sedangkan diameter zona hambat terkecil pada konsentrasi 150 ppm, yakni 33.00 cm. *Streptomyces* sp memiliki tingkat resistensi pada logam Pb hingga konsentrasi 150 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi yang cukup tinggi masih dapat menunjukkan adanya aktivitas bakteri yang dapat tumbuh dan mengambat logam.

Tabel 1. Diameter Zona Hambat

Konsentrasi (ppm)	Diameter (cm) \pm STD
5	50.33 \pm 13.65
50	49.67 \pm 2.88
150	33.00 \pm 1.73

Gambar 2. Zona hambat bakteri *Streptomyces* sp. strain I18 pada Pb di konsentrasi (a) 5 ppm, (b) 50 ppm, dan (c) 150 ppm

Zona hambat yang terbentuk dari yang terkecil hingga terbesar berturut di konsentrasi 5, 50, dan 1000 ppm. Adanya zona hambat pada media yang disuspensikan logam Pb menunjukkan bahwa *Streptomyces* sp. strain I18 memiliki kemampuan resistensi terhadap Pb.

Baz *et al.* (2015) mengatakan bahwa tingkat resistensi bakteri sesuai dengan tingkat konsentrasi logam berat dimana bakteri tersebut diisolasi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Liu *et al.* (2020) *Streptomyces* sp. memiliki aktivitas resistensi pada logam Cd dan Pb. Selain itu, menurut Sedlakova-Kadukova *et al.* (2019), *Streptomyces* sp. yang diisolasi dari pembuangan lumpur resistensi pada logam Zn. Resistensi yang terjadi diduga melibatkan gen yang terekspresi pada bakteri. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Arifiyanto *et al.* (2017), protein yang terekspresikan pada kondisi paparan PbCl₂ diduga sebagai salah satu mekanisme resistensi bakteri terhadap logam Pb.

Bioakumulasi Logam Pb

Bioakumulasi dilakukan secara intraseluler oleh bakteri dengan mengukur konsentrasi logam sebelum dan setelah diinokulasi bakteri menggunakan instrumen AAS. Konsentrasi yang digunakan yaitu sebesar 150, 50, dan 5 ppm dengan perbandingan 1:4, logam 12 ml dan suspensi bakteri 3 ml. Setelah didapatkan supernatan melalui

sentrifugasi, dianalisis menggunakan AAS. Hasil yang didapatkan sebagai berikut.

Tabel 2. Nilai Uji Bioakumulasi Logam

Konsentrasi hitung (ppm)	Konsentrasi terukur		Konsentrasi Reduksi (ppm)	Akumulasi Logam (%)
	Awal (ppm)	Akhir (ppm)		
150	148.70	141.92	6.78	5
50	50.75	45.95	4.80	9
5	3.07	1.58	1.49	49

Akumulasi logam tertinggi pada konsentrasi 3.07 ppm, yaitu sebesar 49% (Tabel 2). *Streptomyces* sp. strain I18 memiliki kemampuan dalam absorpsi Pb dan berpotensi menjadi konfigurasi bioreaktor yang dapat menyerap logam pada limbah dengan kepadatan sel bakteri tertentu. Karena kepadatan sel juga dapat mempengaruhi kemampuan akumulasi logam. Menurut Timková *et al.* (2018), kepadatan sel yang tinggi dapat menurunkan jumlah situs aktif yang digunakan untuk mengikat logam.

Berdasarkan hasil yang didapatkan, pada konsentrasi 148.7 ppm menunjukkan tingkat reduksi logam Pb paling tinggi sebesar 6.78 ppm. Sedangkan akumulasi logam pada konsentrasi 148.7 ppm hanya mencapai 5%. Pada penelitian yang dilakukan oleh Soraia *et al.* (2015), *Streptomyces* sp. strain BN₂ memiliki tingkat resistensi yang tinggi tetapi kapasitas akumulasi logam yang rendah.

Proses bioakumulasi yang terjadi pada *Streptomyces* sp. dapat terjadi disebabkan oleh metabolit sekunder yang dihasilkan untuk mengatasi faktor stres termasuk kadar logam yang beracun. Tetapi, untuk menghasilkan metabolit sekunder dibutuhkan waktu yang cukup lama. Pada penelitian ini, bakteri diinkubasi selama 24 jam. Kurun waktu yang singkat tidak memungkinkan *Streptomyces* sp. memproduksi metabolit sekunder. Jacob *et al.* (2017) mengatakan bahwa produksi metabolit sekunder *Streptomyces* optimum dicapai dalam pH 7 pada 35°C setelah diinkubasi selama 7 hari.

Penyebab yang mungkin terjadi adalah karena adanya akumulasi intraseluler yang dilakukan oleh dinding sel. Veneu *et al.*

(2013) menjelaskan bahwa dinding sel pada *Streptomyces* sp. umumnya terbuat dari peptidoglikan yang berhubungan dengan asam teikoat dan polisakarida. Molekul-molekul ini memiliki gugus fungsi yang dapat berperan penting dalam sekuestrasi ion logam. Menurut Rho & Kim (2002), kelompok fosfat peptidoglikan dan asam teikoat dianggap dapat menjadi situs pengikatan logam.

Berdasarkan data dan pembahasan diatas, dapat disimpulkan sebagai berikut.

1. *Streptomyces* sp. strain I18 dapat menurunkan kadar Pb melalui proses bioakumulasi.
2. Mekanisme yang mungkin terjadi adalah terjadinya akumulasi intraseluler oleh dinding sel bakteri.
3. *Streptomyces* sp. strain I18 dapat dijadikan alternatif biosorpsi Pb kurang dari 100 ppm.

TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Universitas Lampung atas dana hibah yang diberikan untuk melaksanakan penelitian ini. Ucapan terima kasih kepada laboran Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Lampung, ibu Oni Mastuti, yang berkenan membantu dalam penyediaan alat dan bahan. Ucapan terimakasih kepada rekan tim mummy, ori, dan sun atas bantuan dan dukungan dalam pengerjaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, R. A., Ryandini, D., & Kusharyati, D. F. (2017). Potensi Aktinomisetes Asal Tanah Perakaran Mangrove Segara Anakan Cilacap Sebagai Penghasil Antifungi Terhadap Yeast Patogen *Candida albicans*. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 2(2), 39-44.
- Al-Saadi, A., & Mohammad Jaralla, E. (2013). Isolation and Identification of *Streptomyces* from Different Sample of Soils. *Journal of Biology and Medical Sciences -JBMS An Open Access International Journal Published by University of Babylon Iraq*, 1, 31-36.
- Arifiyanto, A., Apriyanti, F. D., Purwaningsih, P., Kalqutny, S. H., Agustina, D., Surtiningsih, T., Shovitri, M., & Zulaika, E. (2017). Lead (Pb) bioaccumulation; Genera *Bacillus* isolate S1 and SS19 as a case study. *AIP Conference Proceedings*. 1854: 1-6.
- Baker, M. R., Coutelot, F. M., & Seaman, J. C. (2019). Phosphate amendments for chemical immobilization of uranium in contaminated soil. *Environment International*, 129(June), 565-572.
- Jacob, J., Rajendran, R. U., Priya, S. H., Purushothaman, J., & Saraswathy Amma, D. K. B. N. (2017). Enhanced antibacterial metabolite production through the application of statistical methodologies by a *Streptomyces* nogalater NIIST A30 isolated from Western Ghats forest soil. *PLoS ONE*, 12(4), 1-21.
- Kaduková, J., & Virčiková, E. (2005). Comparison of differences between copper bioaccumulation and biosorption. *Environment International*, 31(2), 227-232.
- Plouffe, G., Bulle, C., & Deschênes, L. (2015). Case study: Taking zinc speciation into account in terrestrial ecotoxicity considerably impacts life cycle assessment results. *Journal of Cleaner Production*, 108, 1002-1008.
- Putri, M. H., Handayani, K., Setiawan, W. A., Damayanti, B., Ratih, C. L., & Arifiyanto, A. (2021). Screening of Extracellular Enzymes on *Serratia marcescens* strain MBC1. *Jurnal Riset Biologi Dan Aplikasinya*, 3(1), 23-29.
- Rho, J. Y., & Kim, J. H. (2002). Heavy metal biosorption and its significance to metal tolerance of streptomycetes. *Journal of Microbiology*, 40(1), 51-54.
- Romero, M. C., H. Reinoso, E., Urrutia, M. I., & Moreno Kiernan, A. (2006). Biosorption of heavy metals by *Talaromyces helicus*: a trained fungus for copper and biphenyl detoxification. *Electronic Journal of Biotechnology*, 9(3):21-26.
- Sedlakova-Kadukova, J., A. Kopcakova, L. Gresakova, A. Godany, P. Pristas. (2019). Bioaccumulation and biosorption of zinc by a novel

- Streptomyces* K11 strain isolated from highly alkaline aluminium brown mud disposal site. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 167, 204-211.
- Soraia, E. B., Mohamed, B., M., B., Lahcen, H., A., E. G., & B., I. (2015). Resistance to and accumulation of heavy metals by actinobacteria isolated from abandoned mining areas. *Scientific World Journal*, 2015, 1-14.
- Suthindhiran, K., & Kannabiran, K. (2009). Cytotoxic and antimicrobial potential of actinomycete species *Saccharopolyspora salina* VITSDK4 isolated from the bay of Bengal coast of India. *American Journal of Infectious Diseases*, 5(2), 90-98.
- Thavasi, R., Subramanyam Nambaru, V. R. M., Jayalakshmi, S., Balasubramanian, T., & Banat, I. M. (2009). Biosurfactant production by *Azotobacter chroococcum* isolated from the marine environment. *Marine Biotechnology*, 11(5), 551-556.
- Timková, I., Sedláková-Kaduková, J., & Pristaš, P. (2018). Biosorption and bioaccumulation abilities of actinomycetes/streptomycetes isolated from metal contaminated sites. *Separations*, 5(4): 54-
- Veneu, D. M., Torem, M. L., & Pino, G. A. H. (2013). Fundamental aspects of copper and zinc removal from aqueous solutions using a *Streptomyces lunalinharesii* strain. *Minerals Engineering*, 48, 44-50.
- Volskey, B. (2013). *Sorption and Biosorption* (1st ed.). BV Sorbex.