*JURNAL BIOLOGICA SAMUDRA 4 (2): 136 – 149 (2022)*
*DOI: https://doi.org/10.33059/jbs.v4i1.4893*

# Pertumbuhan Isolat *Bacillus cereus* (IHB B 379) pada Suhu dan Konsentrasi Merkuri Klorida ($HgCl_2$) Berbeda

## *The Growth of Bacillus cereus (IHB B 379) Isolate at Different Temperature and Concentration of Mercury Chloride ($HgCl_2$)*

Boni Pasius Wiro[1], Masnur Turnip[1], Rikhsan Kurniatuhadi[1]

[1]Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tangjungpura, Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak, Kalimantan Barat, Indonesia.

**Received**: 19 Januari 2022; **Accepted**: 20 Desember 2022; **Published:** 30 Desember 2022

Kata Kunci *Bacillus cereus;* merkuri klorida ($HgCl_2$); resistensi, suhu
Keywords *Bacillus cereus;* mercury chloride ($HgCl_2$); temperature resistance

Abstrak *Bacillus cereus* (IHB B 379) adalah bakteri yang diisolasi dari fondasi area penambangan emas (PETI) Danau Biru Singkawang. Bakteri ini memiliki sifat resisten yang memungkinkan tumbuh pada media yang mengandung $HgCl_2$ dengan konsentrasi 500 ppm. Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh suhu dan konsentrasi $HgCl_2$ terhadap pertumbuhan *B.cereus* (IHB B 379). Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial, yang meliputi dua faktor perlakuan. Faktor pertama adalah temperatur dengan tiga level yaitu $32^0$ C, $37^0$ C dan $42^0$ C dan faktor kedua adalah konsentrasi $HgCl_2$ dengan tiga taraf yaitu 0 ppm, 250 ppm dan 500 ppm. Uji pertumbuhan *B.cereus* dilakukan dengan metode delusi dan jumlah koloni dihitung dengan metode *Total Plate Count* (TPC). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan *B. cereus* (IHB B 379) dipengaruhi oleh suhu dan konsentrasi $HgCl_2$ yang bervariasi. Pola pertumbuhan terbaik *B. cereus* muncul pada suhu 32° C dan konsentrasi $HgCl_2$ 250 ppm.

*ABSTRACT* *Bacillus cereus (IHB B 379) is a bacterium isolated from the foundation area of the Lake Biru Singkawang gold mining (PETI). This bacterium has resistant properties that allow it to grow in media containing $HgCl_2$ with a concentration of 500 ppm. This study aims to determine the effect of temperature and concentration of $HgCl_2$ on the growth of B.cereus (IHB B 379). The study used a factorial Completely Randomized Design (CRD), which included two treatment factors. The first factor is the temperature range with three levels, namely 320 C, 370 C and 420 C and the second factor is the concentration of $HgCl_2$ with three levels, namely 0 ppm, 250 ppm and 500 ppm. B.cereus (IHB B 379) growth test was carried out using the delusion method and the number of colonies was counted using the Total Plate Count (TPC) method. The results showed that the growth of B.cereus) was affected by varying temperature and concentration of $HgCl_2$. The best growth pattern of B. cereus appeared at 32°C and 250 ppm $HgCl_2$ concentration.*

*Correspondence:
Email:bonipasius525@gmail.com

## 1. Pendahuluan

Logam berat adalah istilah yang digunakan untuk logam dan metaloid dengan massa jenis atom lebih besar dari 5 g/cm3. Sebagian besar logam berat memiliki sifat toksik, tidak mudah rusak (Chen, 2012), sehingga selalu bergerak dalam keadaan konstan (Laxman dan More, 2002). Salah satu logam berat yang paling berbahaya adalah merkuri ($HgCl_2$), meskipun $HgCl_2$ terdapat di alam dalam konsentrasi rendah. Karena sifatnya yang sangat beracun dan mudah rusak, perlu dilakukan upaya untuk mengatasi risiko pencemaran merkuri ($HgCl_2$). Upaya detoksifikasi merkuri dapat dimanfaatkan dengan metode bioremediasi menggunakan bakteri resisten merkuri dengan gen resisten merkuri (*mer operon*) (Barkay *et al*, 2003; Deckwer *et al*, 2004). Mikroorganisme yang ditemukan di daerah yang terkontaminasi merkuri ($HgCl_2$) biasanya bertahan hidup dalam konsentrasi tinggi merkuri ($HgCl_2$).

Bakteri merupakan salah satu mikroorganisme yang dapat digunakan sebagai desinfektan logam dari lingkungan logam yang tercemar (tanah, air dan sedimen) (Kang *et al*, 2016). *Bacillus* adalah genus bakteri yang banyak digunakan sebagai detoksifikasi untuk logam berat. Penelitian Sari dan Zulaika (2015) menemukan bahwa *Bacillus* yang diisolasi dari Sungai Kalimas di Surabaya diketahui merupakan bakteri yang resisten terhadap merkuri dan mampu menurunkan kadar merkuri secara enzimatis pada media kultur. Selain itu, isolat ini juga diketahui tahan terhadap logam Hg, Cd, Pb dan Cu (Zulaika *et al*, 2012). Penelitian Gunaseelan dan Ruban (2011) mengungkapkan bahwa bakteri dari genus *Bacillus*, khususnya *Bacillus cereus*, *B. thuringiensis*, *B. subtilis* dan *B. favisporus* mampu bertahan dan tumbuh pada konsentrasi $HgCl_2$ 60-350 mg/ml dengan kapasitas bioremoval hingga 55%-98%.

Studi Kurniatuhadi *et al*, (2013) mengisolasi *Bacillus cereus* (IHB B 379) dari fondasi area penambangan emas tanpa izin (PETI) di Danau Biru Singkawang, bakteri ini memiliki sifat resisten karena mampu tunbuh dalam media kultur $HgCl_2$ 500 ppm . Resistensi *B. cereus* terhadap merkuri yang diisolasi dari bekas tambang emas di Danau Biru Singkawang berpotensi menurunkan kadar merkuri dalam waktu 72 jam (Kurniatuhadi *et al*., 2013). Namun, penelitian yang dilakukan oleh Kurniatuhadi *et al*, (2013) hanya meneliti resistensi *Bacillus cereus*.

*Bacillus cereus* yang memiliki daya tahan terhadap merkuri yang diisolasi pada bekas penambangan memiliki pertumbuhan sel dan karakteristik morfologi koloni yang berbeda dengan *B. cereus* yang tidak diisolasi pada bekas penambangan. Blaudez *et al.* (2000) melaporkan bahwa konsentrasi tinggi merkuri atau logam berat lainnya dapat menghambat pertumbuhan, mengubah morfologi dan mengganggu metabolisme organisme. Menurut Hayati (2012), pengujian toksisitas $HgCl_2$ pada pertumbuhan bakteri dengan konsentrasi $HgCl_2$ yang berbeda menunjukkan bahwa konsentrasi $HgCl_2$ yang lebih tinggi membutuhkan waktu lebih lama untuk mencapai fase stagnan, dan peningkatan $HgCl_2$ dalam media mempengaruhi penampilan

morfologi koloni. menjadi hitam. Meski tidak resisten, informasi mengenai morfologi koloni dan pertumbuhan sel *B. cereus* karena peningkatan kadar $HgCl_2$ belum dipelajari secara ekstensif. Berdasarkan hal tersebut maka perlu dilakukan uji pengaruh pemberian merkuri ($HgCl_2$) terhadap pertumbuhan dan diameter koloni *B. cereus* (IHB B 379).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh kombinasi suhu dan konsentrasi merkuri ($HgCl_2$) terhadap pertumbuhan *Bacillus cereus* (IHB B 379) dan untuk menentukan kombinasi terbaik dari konsentrasi merkuri ($HgCl_2$) dan suhu untuk pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* (IHB B 379).

## 2. Metode

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian berlangsung pada bulan Februari hingga Desember 2020 di Laboratorium Mikrobiologi, Program Studi Biologi, Fakultas MIPA Universitas Tanjungpura.

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *aluminium foil*, *autoclave*, *Biology Safety Cabinet* (BSC), cawan petri, cawan Erlenmeyer 100 ml, cawan Erlenmeyer 250 ml, gelas ukur 50 ml, gelas ukur 250 ml, bunsen, inkubator, jarum, kulkas, kapas swab, lampu spiritus, mikroskop stereo, penetes, dudukan tabung reaksi, pengaduk magnet, spatula, timbangan analitik dan tabung reaksi. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Natrium Klorida* (NaCl), *Nutrinet Broth* (NB), *Nutrien Agar* (NA), Merkuri Klorida (HgCl2), akuades, alkohol 70% dan isolat *B. cereus* (IHB B). 379) koleksi Kurniatuhadi dkk. (2013).

### Rancangan Percobaan

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RAL), yang meliputi dua faktor perlakuan. Setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali sehingga diperoleh 27 satuan percobaan.

### Prosedur Kerja

*Sterilisasi Alat.*

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian disterilisasi terlebih dahulu dengan metode sterilisasi basah. Ose disterilkan dengan metode sterilisasi pemijaran. Sterilisasi alat dan media dengan *autoklaf* pada tekanan 2 atm dan suhu $121^0$ C selama 20 menit.

*Pembuatan Media Nutrient Agar (NA) dan Nutrient Broth (NB)*

Media *Nutrien Agar* (NA) disiapkan dengan mencampur 20 g bubuk NA dalam 1000 ml air suling. Larutan NA dipanaskan sampai mendidih sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer* sampai larutan menjadi homogen. Media *Nutrient Broth* (NB) dibuat dengan mencampurkan 8 g serbuk NB dalam 1000 ml, larutan media NB kemudian dipanaskan sambil diaduk dengan *magnetic stirrer* sampai larutan homogen. Media NB dan media NA selanjutnya disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan 1 atm selama 15 menit.

*Regenerasi dan Aktivasi Biakan Bakteri*

Regenerasi biakan bakteri dilakukan dengan memindahkan larutan stok isolat *B. cereus* yang diisolasi ke NA (*nutrient agar*) tanpa $HgCl_2$ menggunakan metode *kuadran scraping*. Kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

*Uji Viabilitas Isolat B. cereus (IHB B 379) Terhadap Suhu dan Konsentrasi HgCl2*

Pengukuran populasi *B. cereus* diamati dengan menghitung CFU/ml. Pengukuran viabilitas sel *Bacillus cereus* dilakukan selama 33 jam dengan interval 3 jam. Pengumpulan aseptik menjadi satu isolat berumur 24 jam yang dimodifikasi dengan *Nutrient Agar* (NA) terbaik yang disesuaikan dengan *McFarland Standard* 0.5. 1 ml kultur starter *Bacillus cereus* ditempatkan dalam tabung reaksi dengan 9 ml media NaCl cair (*saline*). Sebanyak 1 ml dikumpulkan secara aseptik, diencerkan secara serial hingga $10^{-5}$ dan 20 ml media NA ditambahkan ke dalam pengenceran $10^{-5}$. Kemudian diinkubasi 1x24 jam pada suhu $32^0$ C, $37^0$ C dan $42^0$ C. Pertumbuhan diamati dan jumlah CFU/ml dihitung berdasarkan persyaratan SPC 30-300 koloni. Pengamatan dilakukan menggunakan penghitung koloni (Harley & Prescott, 2002).

*Pembuatan Kurva Pertumbuhan B. cereus (IHB B 379)*

Pertumbuhan bakteri dipantau dan dievaluasi dengan menentukan kurva pertumbuhan isolat *Bacillus cereus* terpilih dalam media tanpa atau dengan penambahan $HgCl_2$ (Rehman *et all*. 2007). Pengamatan dilakukan setelah terpapar $HgCl_2$ sebesar 0 ppm, 250 ppm dan 500 ppm dengan masa inkubasi 2x24 jam. Data jumlah koloni yang diperoleh kemudian dijadikan kurva pertumbuhan dengan sumbu x sebagai waktu (t) dan sumbu y sebagai rata-rata jumlah koloni (Harley dan Presscot, 2002).

*Pengamatan Morfologi Koloni*

Pengamatan morfologi koloni Bacillus cereus dilakukan secara makroskopis menggunakan mikroskop stereo yang meliputi pengamatan ukuran koloni, warna koloni, dan bentuk koloni bakteri. Hasil pengamatan tersebut kemudian

dibandingkan dengan literatur yang digunakan yaitu buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Diameter koloni diamati dan diukur dengan mikrometer sekrup digital dengan meletakkan mikrometer sekrup di atas koloni bakteri.

**Analisis dan Penyajian Data**

Data hasil pengamatan pertumbuhan sel disajikan dalam bentuk grafik kurva pertumbuhan sel. Data jumlah koloni bakteri setelah perlakuan dianalisis dengan *two way analysis of variance* (ANOVA), dan jika hasil menunjukkan perbedaan yang nyata maka dilanjutkan uji *Duncan* dengan taraf signifikansi 5%.

## 3. Hasil

### Uji Perlakuan Kombinasi Suhu dan Konsentrasi HgCl2 terhadap Pertumbuhan Koloni Bacillus cereus (IHB B 379)

Hasil kombinasi suhu dan konsentrasi $HgCl_2$ terhadap pertumbuhan koloni *Bacillus cereus* (IHB B 379) menunjukkan bahwa, penambahan konsentrasi $HgCl_2$ memengaruhi pertumbuhan jumlah koloni *B. cereus* (IHB B 379). Pengamatan pada jam ke 0 dan jam 9 menunjukkan bahwa isolat *B. cereus* (IHB B 379) belum tumbuh merata. Sedangkan pada pengamatan 24 jam dan 33 jam, isolat *B. cereus* (IHB B 379) telah tumbuh. Pertumbuhan tertinggi *B. cereus* (IHB B 379) ditemukan pada isolat dengan kode A2B1 dan pertumbuhan *B. cereus* (IHB B 379) terendah pada isolat dengan kode A3B1 (Tabel 1).

Tabel 1 Rata-rata jumlah koloni *Bacillus cereus* (IHB B 379) pada perlakuan kombinasi suhu dan konsentrasi $HgCl_2$

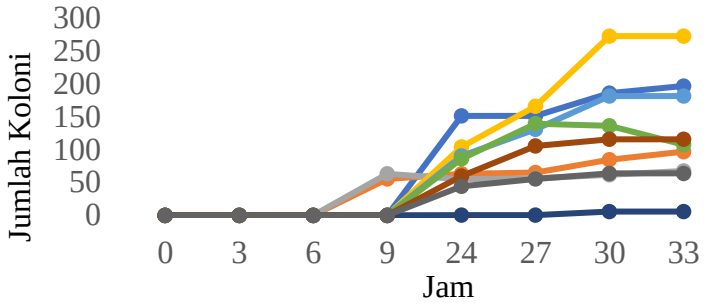
| Kombinasi Perlakuan | Jumlah Koloni (CFU/mL) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 0 Jam | 9 jam | 24 Jam | 33 Jam |
| A1B1 | 0,00±0,00 | 0.00±0.00$^{a}$ | 151,00±68,43$^{a}$ | 196.33±149.61$^{ab}$ |
| A1B2 | 0,00±0,00 | 55.00±22.91$^{a}$ | 63,00±24,43$^{a}$ | 96.67±25.00$^{ab}$ |
| A1B3 | 0,00±0,00 | 63.00±62.38$^{a}$ | 54,67±71,06$^{a}$ | 67.33±74.27$^{ab}$ |
| A2B1 | 0,00±0,00 | 0.00±0.00$^{b}$ | 104,00±56,10$^{a}$ | 272.00±114.89$^{a}$ |
| A2B2 | 0,00±0,00 | 0.00±0.00$^{b}$ | 90,33±40,50$^{a}$ | 181.00±83.23$^{a}$ |
| A2B3 | 0,00±0,00 | 0.00±0.00$^{b}$ | 85,67±60,21$^{a}$ | 107.00±25.98$^{a}$ |
| A3B1 | 0,00±0,00 | 0.00±0.00$^{b}$ | 0,33±0,57$^{b}$ | 5.67±9.81$^{b}$ |
| A3B2 | 0,00±0,00 | 0.00±0.00$^{b}$ | 59,33±48,52$^{b}$ | 115.33±81.08$^{b}$ |
| A3B3 | 0,00±0,00 | 0.00±0.00$^{b}$ | 44,00±10,14$^{b}$ | 63.67±10.06$^{b}$ |

Keterangan: Keterangan: Nilai yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan hasil tingkat yang sangat berbeda α : 0,05

Berdasarkan hasil analisis statistik, penambahan konsentrai $HgCl_2$ pada media tumbuh bakteri *Bacillus cereus* (IHB B 379) memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan *B. cereus* (IHB B 379) dilihat dari jumlah koloni pada waktu inkubasi 9 jam ($F_{8.18}$ = 9.457, p = 0.002; Anova), 24 jam ($F_{8.18}$ = 4.135 , p = 0.033; Anova), dan 33 jam ($F_{8.18}$ = 5.657 , p = 0.012; Anova). Hasil uji lanjut Duncan diperoleh bahwa pada waktu pengamatan 9 jam dengan perlakuan pemberian konsentrasi $HgCl_2$ 0 ppm menunjukkan hasil berbeda nyata terhadap perlakuan pemberian $HgCl_2$ dengan konsentrasi 250 ppm dan 500 ppm. Pada waktu pengamatan 24 jam dengan pemberian konsentrasi $HgCl_2$ 500 ppm menunjukkan hasil berbeda nyata terhadap perlakuan pemberian $HgCl_2$ dengan konsentrasi 0 ppm dan 250 ppm. Sedangkan pada waktu pengamatan 33 jam pemberian konsentrasi $HgCl_2$ 0 ppm, 250 ppm, dan 500 ppm berbeda nyata.

**Kurva Pertumbuhan *Bacillus cereus* (IHB B 379) pada Kombinasi Suhu dan Konsentrasi HgCl2**

Pertumbuhan bakteri adalah pertumbuhan sel dan kemampuan bakteri untuk berkembang biak, seperti yang ditunjukkan pada kurva pertumbuhan. Kurva pertumbuhan dirancang untuk menggambarkan pola pertumbuhan bakteri yang terbagi menjadi empat fase yaitu adaptif, eksponensial, stasioner dan mortalitas (kematian). Hasil penelitian menunjukkan pemberian konsentrasi HgCl2 memengaruhi pola kurva pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* (IHB B 379) (Gambar 1).




Gambar 1. Kurva pertumbuhan *Bacillus cereus* (IHB B 379) pada kombinasi Suhu dan konsentrasi $HgCl_2$: (A1B1), (A1B2), (A1B3), (A2B1), (A2B2), (A2B3), (A3B1), (A3B2), (A3B3).

Kurva pertumbuhan pada gambar di atas menunjukan bahwa setiap isolate memiliki pola pertumbuhan yang berbeda. Isolat A2B3 merupakan isolat yang menggambarkan kurva pertumbuhan bakteri secara normal, pada isolat A2B3 ke-

empat fase pertumbuhan bakteri dapat terlihat dengan baik (fase lag, eksponensial, stasioner, dan kematian).

**Uji Perlakuan Kombinasi Suhu dan Konsentrasi $HgCl_2$ terhadap Pertumbuhan Diameter Koloni *Bacillus cereus* (IHB B 379)**

Hasil pengujian kombinasi suhu dan konsentrasi $HgCl_2$ terhadap pertumbuhan diameter koloni *Bacillus cereus* (IHB B 379) menunjukkan bahwa, penambahan konsentrasi $HgCl_2$ memengaruhi diameter koloni *Bacillus cereus* (IHB B 379). Rata-rata diameter *Bacillus cereus* (IHB B 379) paling besar ditunjukan oleh isolat A1B2, dan rata-rata diameter koloni *Bacillus cereus* (IHB B 379) paling kecil ditunjukan oleh isolat A2B1 pada waktu 24 jam pengamatan, serta isolat A3B1 pada waktu pengamatan 33 jam. (Tabel 2).

Tabel 2 Rata-rata Diameter Koloni *Bacillus cereus* (IHB B 379) pada perlakuan kombinasi Suhu dan Konsentrasi $HgCl_2$

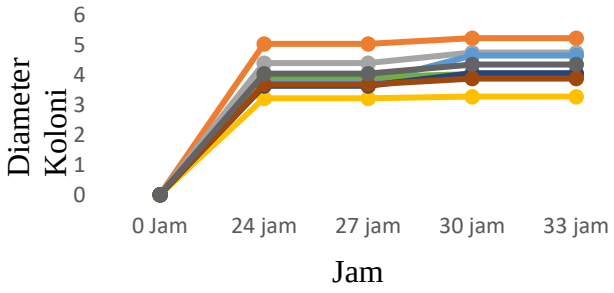
| Kombinasi Perlakuan | Diameter Koloni (mm) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 0 Jam | 9 jam | 24 Jam | 33 Jam |
| A1B1 | 0,00±0,00 | 0.00±0.00 | 3,80±0,79$^{a}$ | 4,00±1,36$^{a}$ |
| A1B2 | 0,00±0,00 | 0.00±0,00 | 5,04±2,40$^{a}$ | 5,23±2,28$^{a}$ |
| A1B3 | 0,00±0,00 | 0.00±0,00 | 4,40±0,45$^{a}$ | 4,07±0,75$^{a}$ |
| A2B1 | 0,00±0,00 | 0.00±0.00 | 3,22±0,46$^{a}$ | 3,28±0,19$^{b}$ |
| A2B2 | 0,00±0,00 | 0.00±0.00 | 3,75±0,67$^{a}$ | 4,65±0,26$^{b}$ |
| A2B3 | 0,00±0,00 | 0.00±0.00 | 3,93±0,77$^{a}$ | 4,03±0,62$^{b}$ |
| A3B1 | 0,00±0,00 | 0.00±0.00 | 3,64±0,46$^{a}$ | 2,15±0,13$^{ab}$ |
| A3B2 | 0,00±0,00 | 0.00±0.00 | 3,68±1,05$^{a}$ | 3,48±1,17$^{ab}$ |
| A3B3 | 0,00±0,00 | 0.00±0.00 | 4,05±0,11$^{a}$ | 3,07±0,15$^{ab}$ |

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan kombinasi suhu dan konsentrasi $HgCl_2$ pada waktu pengamatan 24 jam tidak berbeda nyata pada tiap-tiap perlakuan. Sedangkan pemberian perlakuan kombinasi suhu dan konsentrasi $HgCl_2$ memengaruhi diameter koloni *Bacillus cereus* (IHB B 379) pada waktu pengamatan 33 jam ($F_{8,18}$ = 3.892, p = 0.039; Anova). Berdasarkan uji lanjut Duncan, setiap konsentrasi $HgCl_2$ yang diperiksa dalam *Bacillus cereus* (IHB B 379) ternyata menunjukkan hasil yang berbeda nyata selama masa inkubasi 33 jam.

**Grafik Rata-Rata Diameter Koloni *Bacillus cereus* (IHB B 379) pada Kombinasi Suhu dan Konsentrasi $HgCl_2$**

Grafik diameter koloni *Bacillus cereus* (IHB B 379) pada kombinasi Suhu dan konsentrasi $HgCl_2$ menunjukkan diameter koloni *Bacillus cereus* (IHB B 379) pada

pengamatan 0 jam sampai 24 jam diameter koloni *Bacillus cereus* (IHB B 379) belum mengalami pertumbuhan (belum bisa diukur). Kemudian mengalami peningkatan ukuran yang cenderung stabil dari waktu inkubasi 24 jam hingga 33 jam inkubasi (Gambar 2).




Gambar 4.2. Kurva pertumbuhan *Bacillus cereus* (IHB B 379) pada kombinasi Suhu dan konsentrasi $HgCl_2$: (A1B1), (A1B2), (A1B3), (A2B1), (A2B2), (A2B3), (A3B1), (A3B2), (A3B3).

## 4. Pembahasan

Berdasarkan Tabel 4.1 pertumbuhan koloni isolat A2B1 pada perlakuan pemberian konsentrasi $HgCl_2$ 250 ppm, rata-rata jumlah koloni 104,00-272,00 CFU/mL. Sedangkan jumlah koloni paling sedikit ditunjukkan oleh isolat A3B1 dengan perlakuan pemberian konsentrasi $HgCl_2$ 500 ppm, rata-rata jumlah koloni 0,33-5,67 CFU/mL. Penurunan jumlah koloni *Bacillus cereus* (IHB B 379) ini disebabkan oleh peningkatan konsentrasi $HgCl_2$ sehingga pertumbuhan jumlah koloni semakin menurun. Adisya (2015) melaporkan bahwa koloni *Bacillus cereus* dapat tumbuh dengan baik pada media yang mengandung $HgCl_2$ pada konsentrasi 100 mg/L dan potensi pertumbuhan koloni isolat *Bacillus cereus* menurun dengan meningkatnya konsentrasi $HgCl_2$ pada media tersebut.

Pertumbuhan koloni *Bacillus cereus* (IHB B 379) yang media tumbuhnya menerima $HgCl_2$ kemungkinan memiliki pertumbuhan yang lebih baik dibandingkan dengan koloni *Bacillus cereus* (IHB B 379) yang tidak menggunakan media pertumbuhan $HgCl_2$. Hal ini sejalan dengan pandangan Hartati (2011) bahwa penambahan $HgCl_2$ pada media pertumbuhan bakteri juga dapat memberikan pertumbuhan bakteri yang lebih baik dibandingkan media tanpa $HgCl_2$. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan $HgCl_2$ dapat merangsang pertumbuhan bakteri resisten merkuri dengan atau tanpa penambahan sumber C dan N. Banyak jenis bakteri dapat menggunakan logam $HgCl_2$ sebagai sumber energi dengan dua tahapan reaksi. Reaksi pertama adalah adanya aktivitas enzim merkuri *reductase*, yang mereduksi $Hg^{2+}$ menjadi $Hg^0$. Reaksi kedua adanya residu NADPH yang dioksidasi

oleh PMS (*phenazine methosulfate*) dan MTT (*methylthiazolyl blue*) direduksi menjadi *formazan* yang larut dalam air (Canstein *et all*, 1999).

Kurva pertumbuhan *Bacillus cereus* (IHB B 379) (Gambar 4.1) menunjukkan pola pertumbuhan yang berbeda. Berdasarkan hasil penelitian, ditunjukkan kurva pertumbuhan bakteri yang menunjukkan fase pertumbuhan normal *Bacillus cereus* (IHB B 379) pada isolat A2B3 dan kurva pertumbuhan yang buruk dari *Bacillus cereus* (IHB B 379) pada isolat A3B1. Gangguan pertumbuhan yang dicatat dalam isolasi A3B1 disebabkan oleh peningkatan konsentrasi $HgCl_2$ yang digunakan dalam medium. Hartati (2010) menyatakan bahwa peningkatan konsentrasi $HgCl_2$ dalam media dapat mengganggu pertumbuhan bakteri, meskipun media menyerap nutrisi yang cukup.

Isolat A2B3 mengalami fase adaptasi dari 0 jam sampai 9 jam pengamatan, mengalami fase eksponensial dari 9 jam sampai 27 jam pengamatan, kemudian mengalami fase stasioner dari 27 jam sampai 30 jam pengamatan, dan mengalami fase kematian dari 30 jam sampai 33 jam pengamatan. Sedangkan isolat A3B1 fase adaptasi terjadi dari 0 jam sampai 24 jam pengamatan, fase eksponensial terjadi dari 24 jam sampai 30 jam pengamatan, dan fase kematian terjadi dari 30 jam sampai 33 jam pengamatan. Grafik pola pertumbuhan bakteri pada isolat A2B3 menunjukkan kurva pertumbuhan yang berbentuk sigmoid. Kurva pertumbuhan sesuai dengan kurva pertumbuhan bakteri secara keseluruhan, dan menurut Harley dan Prescot (2003) dalam bentuk kurva sigmoid, kurva sigmoid merupakan kurva pertumbuhan bakteri dalam satu fase lengkap. Yakni adaptasi, fase eksponensial, stasioner, dan tahap kematian.

Hasil pengukuran diameter koloni *Bacillus cereus* (IHB B 379) pada kombinasi suhu yang berbeda dan perlakuan konsentrasi $HgCl_2$ menunjukkan bahwa bakteri mulai tumbuh dan diameter dapat diukur setelah 24 jam pengamatan. Lamanya masa pertumbuhan disebabkan media pertumbuhan bakteri yang mengandung racun dari logam $HgCl_2$ yang digunakan. Hartati (2010) menyatakan bahwa lingkungan bakteri dengan toksin menghambat pertumbuhan bakteri, yang membutuhkan waktu adaptasi yang lebih lama dibandingkan pertumbuhan bakteri pada kontrol. Hasil analisis statistik uji diameter rata-rata koloni *Bacillus cereus* (IHB B 379) menunjukkan bahwa konsentrasi $HgCl_2$ dan suhu tidak berbeda nyata antara inkubasi 24 dan 27 jam, sedangkan inkubasi 30 dan 33 jam menunjukkan hasil yang sangat berbeda nyata (Tabel 3 halaman 43-50). Setiabudy dan Gan (1995) melaporkan bahwa adanya sifat resisten pada bakteri menunjukkan bahwa penambahan bahan (logam) tidak berpengaruh atau sedikit berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroba.

Tabel 4.2 menunjukkan rata-rata diameter koloni *Bacillus cereus* (IHB B 379) paling besar ditunjukkan oleh isolat A1B2 dan rata-rata diameter paling kecil ditunjukan oleh isolat A2B1 (saat 24 jam pengamatan) dan A3B1 (saat 33 jam pengamatan). Hal ini disebabkan jumlah koloni yang dimiliki pada isolat A1B2

cenderung lebih sedikit, dan media tumbuh isolat A1B2 tidak ditambahkan $HgCl_2$ sehingga pertumbuhan diameter menjadi lebih besar, jika dibandikan dengan isolat A2B1 dan A3B1 yang telah ditambahkan $HgCl_2$ dengan konsentrasi 250 ppm dan 500 ppm. Semakin banyak jumlah koloni yang tumbuh pada media tumbuh bakteri, menyebabkan ukuran diameter koloni semakin kecil dan penambahan konsentrasi $HgCl_2$ juga memberikan pengaruh terhadap diameter koloni *Bacillus cereus* (IHB B 379). Blaudez *et alll* (2000) melaporkan bahwa konsentrasi logam berat yang tinggi dapat menghambat, mengubah morfologi dan mengganggu metabolisme organisme secara in vitro.

Grafik diameter koloni *Bacillus cereus* (IHB B 379) pada kombinasi suhu dan konsentrasi $HgCl_2$ (Gambar 4.2) menunjukkan diameter koloni *Bacillus cereus* (IHB B 379) mengalami peningkatan ukuran dari waktu inkubasi 0 jam hingga 24 jam waktu inkubasi, dan kenaikannya cenderung stabil dari 24 jam hingga 33 jam waktu inkubasi. Namun pada isolat A1B1 mengalami kenaikan yang cukup tinggi saat 30 jam waktu inkubasi. Hal ini disebabkan media tumbuh isolat A1B1 tidak diberi penambahan konsentrasi $HgCl_2$ dan suhu inkubasi merupakan suhu yang optimal untuk pertumbuhan isolat *Bacillus cereus* (IHB B 379). Wibowo (1998) menyatakan *Bacillus cereus* dapat tumbuh pada kisaran suhu maksimum $37^0$-$48^0$ C, dengan suhu optimal antara 30-$37^0$C.

Faktor lain yang berkontribusi terhadap peningkatan jumlah koloni dan diameter koloni *Bacillus cereus* (IHB B 379) adalah suhu inkubasi. Prescot *et alll* (1999) melaporkan bahwa pengaruh suhu terhadap pertumbuhan mikroba disebabkan oleh sensitivitas reaksi yang dikatalisis oleh enzim. Pada suhu pendek, pertumbuhannya berlipat ganda, dengan meningkatnya suhu, laju reaksi meningkat. Dalam penelitian ini, suhu 32°C dan konsentrasi 250 ppm $HgCl_2$ terbukti merupakan kombinasi yang baik untuk pertumbuhan optimal *Bacillus cereus* (IHB B 379). *Bacillus cereus* dapat tumbuh pada kisaran suhu optimal antara 30-$37^0$C dan tumbuh dengan baik pada media yang mengandung $HgCl_2$ pada konsentrasi 100 mg/L.

Isolat *Bacillus cereus* (IHB B 379) yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat *Bacillus cereus* yang tahan terhadap logam $HgCl_2$. Resistensi bakteri terhadap logam merkuri dapat disebabkan oleh mekanisme biosorpsi dan bioakumulasi. Mekanisme biosorpsi merupakan proses pasif, sehingga logam tidak dapat menghambat sel bakteri. Mekanisme bioakumulasi merupakan proses aktif dimana logam berat menghambat sel bakteri (Chojnacka, 2010). Menurut Iyer *et alll* (2005), mekanisme biosorpsi berkaitan dengan adanya eksopolisakarida (EPS) pada dinding sel bakteri yang berperan sebagai pengkelat logam berat pada permukaan sel. Mekanisme bioakumulasi, sementara itu, berkaitan dengan keberadaan gen operon yang mengatur ketahanan bakteri terhadap logam. Bakteri resisten merkuri memiliki gen mer-operon untuk mekanisme resistensi merkuri (Nascimento & Chartone-Souza, 2003).

Berdasarkan penelitian ini, isolat *Bacillus cereus* (IHB B 379) yang digunakan berpotensi sebagai bioakumulator yang tinggi terhadap cekaman logam $HgCl_2$ hingga konsentrasi 500 ppm. Hal ini dibuktikan dengan kemungkinan mekanisme respon *stress* merkuri pada isolat *Bacillus cereus* (IHB B 379) yang dimaksudkan untuk merangsang kerja sistem operon resisten merkuri agar sel bertahan hidup dalam kondisi *stress* (Hartati, 2010). Berdasarkan beberapa penelitian, terdapat beberapa spesies *Bacillus* yang dapat mengakumulasi logam merkuri untuk menurunkan konsentrasi merkuri dalam media pertumbuhannya, seperti *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus subtilis* dan *Bacillus favisporus*, yang mampu bertahan dan tumbuh pada konsentrasi $HgCl_2$ 60-350 mg/ml dengan kapasitas biodegradasi dapat mencapai 55%-98% (Gunaseelan dan Ruban, 2011). Penelitian Kurniatuhadi *et alll*., (2013) mengisolasi isolat *Bacillus cereus* yang memiliki sifat resisten menggunakan media kultur yang mengandung $HgCl_2$ pada konentrasi 500 ppm dan lainnya penelitian seperti *Bacillus sp*. 68% (Green-Ruiz, 2006), *Bacillus megaterium* 98% (Badjoeri, 2008), *Bacillus sphaericus* 47% (Velasques & Dussan, 2009) dan *Bacillus cereus* (JUBT1) 94% (Goshal 11, 201).

## 5. Kesimpulan

Penelitian mengenai pertumbuhan *Bacillus cereus* (IHB B 379) terhadap suhu dan konsentrasi $HgCl_2$ yang berbeda, dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian suhu dan konsentrasi $HgCl_2$ berbeda memengaruhi jumlah koloni dan diameter koloni *Bacillus cereus* (IHB B 379).
2. Pertumbuhan optimum *Bacillus cereus* (IHB B 379) terjadi pada suhu $32^0$C dan konsentrasi $HgCl_2$ 250 ppm.

## DAFTAR PUSTAKA


Badjoeri, M, 2008, Uji Kemampuan *Bacillus megaterium* Menyerap Logam Berat Merkuri, Pusat Penelitian Limnologi LIPI: Bogor.

Barkay, TSM, Miller and Summers, AO, 2003, Bacterial mercury resistance from atoms to ecosystem, FEMS, *Microbiol,* Rev, vol, 27, hal, 355-384.

Blaudez, D, Botton, B and Chalot, M, 2000, Effects of heavy metals on nitrogen uptake by mycorrhizal birch seedings, *FEMS Microbiol*, Ecol, vol, 33, hal, 61-67.

Canstein Y. K Li, N Timmis, W-D Deckwer and I Wagner-Dobler. 1999. Removal of Mercury from Chloralkali Electrolysis Wastewater by a Mercury-Resistant *Pseudomonas putida sit&xn.App Environ Microbiol.* Vol, 65 (12), hal, 5279.

Chang JS, Hong, J, Oa, O and Oa, Bh, 1993, Interaction of mercuric ions with the bacterial growth medium and its effects on enzymatic reduction of mercury, *Biotechnology Program,* vol, 9, hal, 526-532.

Chaerun, SK, Hasni, S, Sanwani, E, dan Moeis, AM, 2012, Mercury (Hg)-resistant bacteria in Hg-polluted gold mine sites of Bandung, West Java Province, Indonesia, *Microbiology Indonesia,* vol, 6, no, 2, hal, 57-68.

Darmono, 1995, *Logam dalam Sistem Biologi Makhluk Hidup*, Ul-Press, Jakarta

Deckwer, WD, Becker, FU, Ledakowitcz, S and Dobler, LW, 2004, Microbial removal of ionic mercury in three phase fluidized bed reactor, *Environ Sci Technol*, vol, 38, hal, 1858-1865.

E, Zulaika, L, Sembiring, and Soegianto,2012, Characterization and Identification of Mercury-resistant Bacteria from Kalimas River Surabaya-Indonesia by Numerical Phenotic Taxonomy, *Journal Basic and Applied Science Res*, vol, 2, hal, 7263-7269.

E, Zulaika, and L, Sembiring, 2014, Indegenous Mercury Resistant Bacterial Isolates Belong to The Genus *Bacillus* from Kalimas Surabaya As A Potential Mercury Bioreducer, *Journal Applied Environmental Biological Sciences*, vol, 4, hal, 72-76.

E, Zulaika, A, Luqman, T, Arindah, dan U, Sholikah, 2012, Bakteri Resisten Logam Berat yang Berpotensi Sebagai Biosorben dan Bioakumulator, *in Seminar Nasional Waste Management for Sustainable Urban Development*, (2019, Feb).

Ehling-Schulz M, Guinebretière M, Monthan A, Berge O, Fricker M, Svensson B, 2006 Toxin gene profiling of enterotoxic and emetic *Bacillus cereus, FEMS Microbiology Letters,* vol, 260, no, 2, hal, 232–240.

Fatimawali, F, Badaruddin dan Yusuf, I, 2011, Isolasi dan Identifikasi Bakteri Resisten Merkuri dari Muara Sungai Sario Yang dapat Digunakan Untuk Detoksifikasi Limbah Merkuri, *Jurnal Ilmiah Sains*, vol, 11, no, 2, hal, 283.

Ghoshal, S,, Bhattacharya, P,, Chowdhury, R, 2011, De-mercurization of wastewater by *Bacillus cereus* (JUBT1): Growth kinetics, biofilm reactor study and field emission scanning electron microscopic analysis, *Journal of Hazardous Materials*,194: 355–361.

Gikas, P, 2007, Kinetic responses of activated sludge to individual and joint nickel (Ni(II)) and cobalt (Co(II)) an isobolographic approach, *Journal of Hazardous Materials*, vol, 143, hal, 246-256.

Granum, PE, 2007, *Bacillus cereus Ch 20 In: Doyle MP, Beuchat LR (eds) Food microbiology: Fundamentals and frontiers, 3rd ed*, ASM Press, Washington D,C.

Green-Ruiz, C, 2006, Mercury(II) removal from aqueous solutions by nonviable *Bacillus* sp, from a tropical estuary, *Bioresource Technology*, 97: 1907– 1911.

Gunaseelan, C dan Ruban, P, 2011, Heavy metal resistance bacterium isolated from Khrisna-Godavari basin, Bay of Bengal, *International Journal of Environmental Sciences,* vol, 1, no, 7, hal, 1856-1864.

Harley, JP dan Prescott, LM, 2002, *Laboratory Exercise in Microbiology, 5th Edition*, The Mc Graw Hill Companies, New York.

Harley JP, Prescott LM, Klein DA, *Microbiology* (4th ed), New York: McGraw-Hill, 1999; p, 55-90.

Imamudin, Hartati, 2010, *Uji Resistensi Bakteri Terhadap Hgcl, Yang Diisolasi Dari Tanah Penambangan Emas Di Pongkor, Jawa Barat,* Berita Biologi 10(4) - April 2011, Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI.

Iyer, A,, Mody, K, & Jha, B, 2005, Biosorption of heavy metals by a marine bacterium, Marine Pollution Bulletin, 50: 340 – 343.

J, P, Chen, 2012, *Decontamination of Heavy Metals: Process, Mechanisms, and Applications*, Taylor & Francis Group, Florida.

Kang, CH, Kwon, YJ, So, JS, 2016, Bioremediation of Heavy Metals by Using Bacterial Mixtures, *ELSEVIER B,V Ecological Engineering*, vol, 89, hal, 64-69.

Kurniatuhadi, R, Budiharjo, A dan Retnaningsih, TS, 2013, Studi Kemampuan Bioremoval Merkuri Dari Bakteri *Bacillus Thuringiensis* Dan *Bacillus cereus* Asal Danau Biru Singkawang, Kalimantan Barat, *Tesis*, Universitas Diponegoro Kampus Tembalang, Semarang.

Loyd, J,R, 2002, Bioremediation of metals, the application of microorganisms that make and break minerals, Microbial today 29: 67-69.

Mirdat, Y, Patadungan dan Isrun, 2013, Status Logam Berat Merkuri (Hg) Dalam Tanah Pada Kawasan Pengolahan Tambang Emas Di Kelurahan Poboya, Kota Palu, *e-J Agrotekbis*, vol, 1, no, 2, hal, 127-134.

Muneer, B, Iqbal, MJ, Shakoori, FR, Shakoori, AR, 2013, Tolerance and biosorption of mercury by microbial consortia: potential use in bioremediation of wastewater, *Pakistan J, Zool*, vol, 45, no, 1, hal, 247-254.

Rasmussen, LDC, Zawadsky, SJ, Binnerup, GOSJ, Sorensen dan Kroer, N, 2008, Cultivation of Hard-To-Culture Subsurface Mercury-Resistant Bacteria and Discovery of New merA Gene Sequences, *App Environ Microbiol*, vol, 12, no, 74, hal, 3795-3803.

Rehman, A, Ali, A, Muneer, B dan Shakoori, AR, 2007, Resistance And Biosorption Of Mercury By Bacteria Isolated From Industrial Effluents, *Pakistan J, Zool*, vol, 39, no, 3, hal, 137-146.

R, S, Laxman and S, More, 2002, Reduction of Hexavalent Chromium by Streptomyces griseus, *Mineral Engineering*, vol, 15, hal, 831-837.

Schoeni, JL, Wong, ACL, 2005, *Bacillus cereus* food poisoning and its toxins, *Journal of Food Protection*,vol, 68, no, 3, hal, 636–648.

Smith E, A Wolters and JDV Elsas, 1998, Self-tansmissible mercury resistance plamids with gene mobilizing capacity in soil bacterial population: influence of wheat roots and mercury addition, Appl, Environment Microbiology 64, 1210-1219.

Sumantri, A, Laelasari, Ela, NR, Junita dan Nasrudin, 2014, Logam Merkuri pada Pekerja Penambangan Emas Tanpa Izin, *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional,* vol, 8, no, 8.

Vaituzis, Z, Nelson, JD, Wan, JrLW dan Colwell, RR, 1974, Effects ofMercuric Chloride on Growth and Morphology of Selected Strains of Mercury-Resistant Bacteria, *ArrumD MICROBIOLOGY*, vol, 29, no, 2.

Velásquez, L & Dussan, J, 2009, Biosorption and bioaccumulation of heavy metals on dead and living biomass of Bacillus sphaericus, *Journal of Hazardous Materials* 167: 13 – 716.

Vetriani C, Chew YS, Miller SM, Yagi J, Coombs J, Lutz RA, Barkay T, 2005, Mercury adaptation among bacteria from a deep-sea hydrothernmal vent, Appl Environ Microb, 2005;71(1):2206.