

## Keanekaragaman *Rhizobakteri* pada *Pistia stratiotes* dan *Azolla microphylla* yang Terpapar Logam Timbal (Pb)

### *Diversity of Rhizobakteri on Pistia stratiotes and Azolla microphylla Exposed by Plumbum Metal (Pb)*

Nilia Andriani\*, Fida Rachmadiarti

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Surabaya

\*e-mail: nilaandriani@gmail.com

#### ABSTRAK

Bioremediasi dengan menggunakan bakteri merupakan salah satu cara untuk menurunkan bahan toksik yang ada di lingkungan tercemar. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan mendeskripsikan karakteristik bakteri yang ada pada akar tumbuhan *Pistia stratiotes* dan *Azolla microphylla* yang terpapar logam Pb. Jenis Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif. Sampel akar *Azolla microphylla* dan *Pistia stratiotes* diambil di sawah daerah Sidoarjo. Sampel kemudian ditanam pada media selektif *czapex broth* tanpa sukrosa dengan perlakuan timbal asetat sebanyak 0,3 ppm, 2 ppm, dan 4 ppm. Sampel tersebut diisolasi hingga diperoleh isolat murni. Parameter yang diamati morfologi koloni, morfologi sel, dan fisiologi biokimia meliputi uji motilitas, uji katalase, pewarnaan gram, dan uji fisiologi dengan menggunakan *microbact identification system*. Berdasarkan hasil isolasi bakteri pada media selektif *czapex broth* tanpa sukrosa dengan Pb 4 ppm diperoleh tiga jenis bakteri. Satu jenis bakteri dari hasil isolasi akar tumbuhan *Azolla microphylla* yaitu *Actinobacillus* sp. dengan probabilitas 86%. Dua jenis bakteri dari akar *Pistia stratiotes* yaitu *Bacillus badius* dan *Bacillus mycoides* yang masing-masing probabilitasnya 80%. Ketiga jenis bakteri tersebut berbentuk batang, uji oksidase positif dan uji motilitas negatif.

**Kata kunci:** rhizobakteri; timbal (Pb); *Azolla microphylla*; *Pistia stratiotes*

#### ABSTRACT

Bioremediation use bacteria is one of solution to reduce the toxic substances present in polluted environment. This study aimed to identify and describe characteristics of bacteria that exist in the root plants of *Pistia stratiotes* and *Azolla microphylla* that exposed lead metal. This was descriptive research. Samples of *Azolla microphylla* dan *Pistia stratiotes* taken in rice fields in Sidoarjo. The sample was grown on selective *czapex broth* medium without sucrose with acetat lead treatment of 0,3 ppm, 2 ppm, and 4 ppm. The sample was isolated until pure isolat was obtained. The parameters observed were colony morphology, cell morphology, biochemistry physiology that including motility test, catalase test, gram stain, and physiology test with *microbact identification system*. Bacteria were characterization is all of isolat that obtain on *czapex broth* media with highest concentration plumbum (4 ppm). One bacteria from *Azolla microphylla* root is *Actinobacillus* sp. with 80% probability. Two bacteria from *Pistia stratiotes* root are *Bacillus badius* and *Bacillus mycoides* that each other has 80% probability. The three of bacteria has bacil shape, positive oxidase test and negative motility test.

**Key word's:** rhizobacteria; plumbum (Pb); *Azolla microphylla*, *Pistia stratiotes*.

#### PENDAHULUAN

Saat ini masalah pencemaran air merupakan masalah penting yang harus ditanggulangi sebab air dibutuhkan oleh semua makhluk hidup. Pencemaran air dapat disebabkan oleh adanya limbah pabrik, limbah rumah tangga dan sisa-sisa pestisida yang di dalamnya mengandung polutan seperti logam berat timbal yang dapat menurunkan kadar oksigen dalam air (Dwijoseputro, 1990). Logam berat tidak mampu diuraikan sehingga terakumulasi di lingkungan dan di tiap organisme ditingkat tropik

(biomagnifikasi) sehingga menjadi masalah yang cukup serius di dunia (Ali *et al.*, 2013).

Timbal merupakan salah satu logam berat yang biasa ditemukan pada air limbah selain Cd, Co, Zn dan Cr (Singh *et al.*, 2012). Berdasarkan hasil uji penelitian, kadar logam berat timbal (Pb) yang ada di air sawah Kabupaten Sidoarjo adalah 0,3 ppm. Kadar ini melebihi batas ambang yang ditentukan dalam Peraturan Pemerintah Nomor 82 Tahun 2001 tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran air yaitu sebesar 0,03 ppm. Timbal berbahaya pada tubuh manusia di

antaranya menyebabkan gangguan gastrointestinal, sakit perut, kram, mual, muntah, osteoporosis, anoreksia dan memperbesar resiko kemandulan bagi wanita (Gusnita, 2012). Mengingat tingginya kadar Pb di lingkungan dan bahayanya maka penting diupayakan penurunan logam berat di antaranya menggunakan fitoremediasi dengan teknik rhizofiltrasi (Ali *et al.*, 2013; Singh, 2012; Rajkumar *et al.*, 2012). Penggunaan Rhizofiltrasi pada fitoremediasi lebih menguntungkan sebab ada keterkaitan antara mikrob dengan tumbuhan fitoremediator. Tumbuhan fitoremediator menghasilkan eksudat akar yang dapat dijadikan sebagai sumber energi bagi mikroba, sedangkan tumbuhan diuntungkan dalam hal turunnya toksisitas logam berat yang akan diserap (Rajkumar *et al.*, 2012). Beberapa tumbuhan yang dapat dijadikan sebagai fitoremediator di lingkungan perairan yaitu *Pistia stratiotes* dan *Azolla microphylla* (Sood *et al.*, 2011; Rahman dan Hasegawa, 2011; Rachmadiarti *et al.*, 2012; Mishra *et al.*, 2014; Oktavia *et al.*, 2014; Roy *et al.*, 2016).

Adanya keterkaitan antara tumbuhan fitoremediator dengan bakteri rhizosfer yang ada di rhizosfer ini menjadi dasar berkembangnya penelitian mengenai bakteri yang berperan dalam menurunkan kadar logam berat yang ada di lingkungan. Hasil penelitian menunjukkan beberapa jenis bakteri memang mampu meningkatkan bioavailabilitas logam berat yaitu *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptomyces tendae*, *Burkholderia caribensis*, *Bacillus sp.*, *Pantoea sp.*, dan *Enterobacter sp.* (Park *et al.*, 2011; Wani *et al.*, 2007; Delvasto *et al.*, 2009; Dimkpa *et al.*, 2009). Bakteri yang diperoleh dapat berasal dari bakteri yang diperoleh dari rhizosfer tumbuhan fitoremediator, misalnya *Streptococcus agalactiae*, *Bacillus circulans*, *Xanthobacter autotrophicus*. Ketiga jenis bakteri tersebut diperoleh dari rhizosfer akar tumbuhan *Marcilea crenata* Presl. yang terpapar logam Pb sebesar 93,61 mg/kg (Arrizal *et al.*, 2013).

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka dalam penelitian ini dilakukan penelitian tentang keanekaragaman bakteri yang ada di sekitar rhizosfer akar tumbuhan *Azolla microphylla* dan *Pistia stratiotes*. Kedua tumbuhan tersebut diketahui sebagai contoh tumbuhan fitoremediator (Sood *et al.*, 2011; Rahman dan Hasegawa, 2011; Mishra *et al.*, 2014; Oktavia *et al.*, 2014; Roy *et al.*, 2016). Pada penelitian kali ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan mengkarakterisasi rhizobakteri yang ada pada akar *Pistia stratiotes* dan *Azolla microphylla*.

## BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian yang dilakukan dalam penelitian ini adalah penelitian deskriptif dengan metode observasi. Sampel *Pistia stratiotes* diambil dari Desa Kendal Doyong, Kecamatan Candi, Kabupaten Sidoarjo, sedangkan sampel *Azolla microphylla* diambil dari Desa Sumokali Kecamatan Candi, Kabupaten Sidoarjo. Penelitian ini dilakukan pada bulan April hingga Juni 2017. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mikroskop cahaya, neraca analitik, oven, dan *autoclave*. Sampel tumbuhan *Azolla microphylla* dan *Pistia stratiotes* dari lokasi yang telah ditentukan. Media *nutrient agar*, *czapex broth* tanpa sukrosa, kristal violet, iodine, ethyl alkohol 95%, safranin, akuades dan senyawa timbal asetat ( $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ).

Prosedur dalam penelitian ini meliputi pembuatan media, pengambilan sampel, isolasi rhizobakteri dan karakterisasi isolat terpilih. Pembuatan media meliputi pembuatan media *czapex broth* tanpa sukrosa dengan perlakuan timbal asetat 0,3 ppm, 2 ppm dan 4 ppm sebagai media selektif bakteri dan pembuatan media Nutrient Agar. Pengambilan sampel dilakukan dengan memotong pangkal cabang akar *A. microphylla* dan *P. stratiotes* dipotong menggunakan scapel steril kemudian dimasukkan ke dalam plastik sampel steril. Isolasi bakteri dilakukan dengan mengambil sampel akar sebanyak gram dimasukkan ke dalam 9 ml akuades steril dan dihomogenkan (dilakukan pengenceran hingga  $10^{-6}$ ). Sampel tersebut diambil 1 ml dan dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi media *czapex broth* tanpa sukrosa 10 ml. Bakteri tersebut kemudian diisolasi hingga diperoleh isolat murni. Isolat yang diidentifikasi adalah seluruh isolat yang tumbuh dari media *czapex broth* tanpa sukrosa dengan perlakuan timbal 4 ppm. Karakterisasi tersebut meliputi pengamatan morfologi koloni, morfologi dan struktur sel, pewarnaan gram, ujikatalase, uji motilitas, dan uji fisiologi dengan *microbact identification system*.

## HASIL

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, terdapat dua rhizobakteri yang ditemukan pada *Pistia stratiotes* dan satu bakteri pada *Azolla microphylla*. Isolat bakteri dari akar tumbuhan *Azolla microphylla* (A1) adalah *Actinobacillus sp.* Isolat bakteri dari akar tumbuhan *Pistia stratiotes* dengan kode isolat P1 adalah *Bacillus badius*, sedangkan P2 adalah *Bacillus mycoides*. Hasil pengamatan morfologi

koloni ketiga jenis bakteri tersebut ada pada Tabel 1. Hasil pewarnaan gram, uji motilitas, uji katalase dan uji dengan menggunakan *microbact identification system* ada pada Tabel 2.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, koloni isolat A1, P1 dan P2 memiliki bentuk dan diameter yang berbeda-beda. Persamaan dari ketiga jenis koloni bakteri tersebut adalah pada warna koloni yaitu putih dan karakteristik optik yang tidak tembus cahaya. Isolat A1 dan P2 memiliki elevasi yang sama yaitu cembung sedangkan isolat P1 koloninya berelevasi rata. Berdasarkan pewarnaan gram yang telah dilakukan, isolat bakteri dari tumbuhan *Azolla microphylla* (A1) adalah gram

negatif, sedangkan dua isolat bakteri dari tumbuhan *Pistia stratiotes* (P1 dan P2) merupakan bakteri gram positif.

Hasil uji biokimia ketiga bakteri menunjukkan hasil yang berbeda meskipun dengan hasil oksidase yang sama. Berdasarkan hasil uji biokimia dengan menggunakan *microbact identification system* isolat bakteri dari akar tumbuhan *Azolla microphylla* (A1) adalah *Actinobacillus* sp. dengan probabilitas 86%. Isolat bakteri dari akar tumbuhan *Pistia stratiotes* dengan kode isolat P1 adalah *Bacillus badius*, sedangkan P2 adalah *Bacillus mycoides* keduanya memiliki probabilitas sebesar 80%.

**Tabel 1.** Hasil pengamatan morfologi koloni

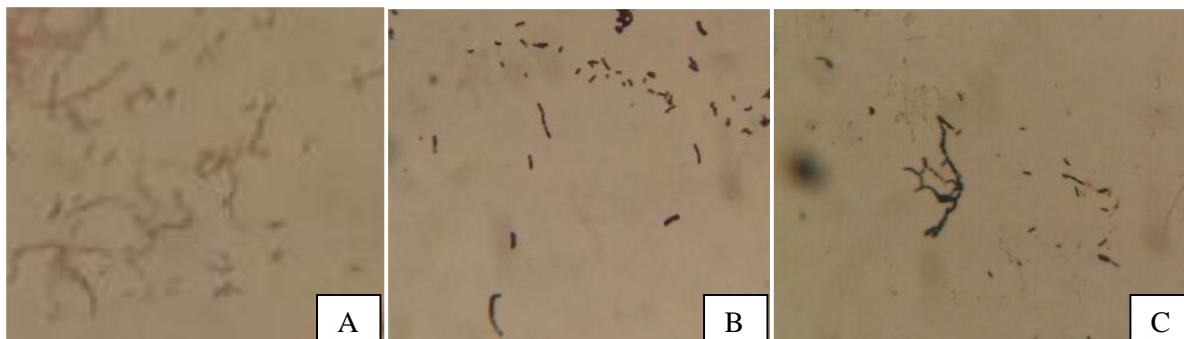
Jenis Tumbuhan	Isolat	Bentuk	Diameter (cm)	Warna	Tepi	Elevasi	Karakteristik optik
<i>Azolla microphylla</i>	A1	Bulat	0,3	Putih	Rata	Cembung	Tidak tembus cahaya
	P1	irregular	5	Putih	Berse-rabut	Rata	Tidak tembus cahaya
<i>Pistia stratiotes</i>	P2	Bulat	0,7	Putih	Rata	Cembung	Tidak tembus cahaya

Keterangan :

A1 : A1: Isolat bakteri dari akar tumbuhan mata lele (*Azolla microphylla*)

P1: Isolat bakteri dari akar tumbuhan apu-apu (*Pistia stratiotes*)

P2: Isolat bakteri dari akar tumbuhan apu-apu (*Pistia stratiotes*)



**Gambar 1.** Morfologi sel bakteri **A)***Actinobacillus* sp.; **B)***Bacillus badius*; **C)***Bacillus mycoides*.

**Tabel 2.** Hasil uji fisiologi ketiga jenis bakteri

No	Uji Fisiologi	Kode Isolat Bakteri		
		A1	P1	P2
1	Oxidase	+	+	+
2	Nitrate	-	-	+
3	Lysine	-	-	-
4	Ornithine	-	-	-
5	H <sub>2</sub> S	-	-	-
6	Glucose	+	-	+
7	Mannitol	-	-	+
8	Xylose	+	-	-
9	ONPG	-	+	+
10	Indole	-	-	-
11	Urease	+	-	-

No	Uji Fisiologi	Kode Isolat Bakteri		
		A1	P1	P2
12	VP	+	+	+
13	Citrate	-	-	-
14	TDA	-	-	-
15	Gelatin	-	-	-
16	Malonate	+	-	-
17	Inositol	-	-	+
18	Sorbitol	-	-	-
19	Rhamnose	-	-	-
20	Sucrose	-	-	+
21	Lactose	+	-	-
22	Arabinose	+	-	-
23	Adonitol	-	-	-
24	Raffinose	-	-	-
25	Salicin	-	-	-
26	Arginine	-	-	-
27	Motilitas	-	-	-
28	Uji katalase	+	+	+
29	Pewarnaan Gram	-	+	+
Probabilitas Spesies (%)		86,00%	80,00%	80,00%

## PEMBAHASAN

Rhizobakteri yang ditemukan pada rizosfer pada penelitian ini ada tiga spesies. Dua spesies diperoleh dari rizosfer akar tumbuhan *Pistia stratiotes* yaitu *Bacillus badius* dan *Bacillus mycoides* yang keduanya memiliki probabilitas 80%. Satu spesies diperoleh dari rizosfer akar tumbuhan *Azolla microphylla* yaitu bakteri *Actinobacillus* sp. dengan probabilitas 86%. Rhizobakteri merupakan bakteri yang berada di sekitar daerah rizosfer akar. Keberadaan rhizobakteri ini terkait dengan adanya eksudat akar di sekitar daerah rizosfer akar tumbuhan tersebut. Eksudat akar berupa senyawa organik yang berupa asam amino, asam karboksilat dan karbohidrat (Rajkumar *et al.*, 2010). Eksudat akar berfungsi sebagai sinyal kimia bakteri untuk melakukan gerak kemotaksis dan memberikan nutrisi bagi bakteri. Gerakan ini umumnya dengan menggunakan flagella atau pili (Afzal *et al.*, 2014). Berdasarkan hasil uji motilitas, *Actinobacillus* sp., *Bacillus badius* dan *Bacillus mycoides* menunjukkan hasil motilitas yang negatif. Hal ini menunjukkan bahwa ketiga bakteri tersebut tidak memiliki alat gerak berupa pili maupun flagella, sehingga eksudat akar hanya digunakan sebagai nutrisi pertumbuhannya.

Pada penelitian ini ditemukan tiga jenis bakteri dari dua tumbuhan yang berbeda. Banyaknya bakteri yang ditemukan pada suatu rizosfer dipengaruhi oleh beberapa faktor

diantaranya adalah jenis dan konsentrasi bahan kimia yang berperan sebagai sumber energi serta faktor lingkungan diantaranya jenis substrat, suhu, pH, adanya oksigen atau aseptor lain, air dan nutrisi (Afzal *et al.*, 2014; Rajkumar *et al.*, 2012; Suryani, 2011). Berdasarkan hasil penelitian ditemukan dua spesies bakteri hasil isolat dari akar tumbuhan *Pistia stratiotes*. Kedua spesies tersebut merupakan bakteri dari Genus *Bacillus*, yaitu *Bacillus badius* dengan probabilitas 80% dan *Bacillus mycoides* dengan probabilitas 80%. Hasil penelitian didukung oleh penelitian lain yang menyatakan bahwa genus *Bacillus* diketahui mampu resisten dan mengakumulasi logam berat antara lain Ni, Cd, Cr, Pb, Zn, As, dan Cu (Vishan *et al.*, 2016; Afzal *et al.*, 2014; Shanab *et al.*, 2014; Babu *et al.*, 2013; Shin *et al.*, 2012; Luo *et al.*, 2011). *Bacillus* sp. mampu menurunkan kadar Pb hingga 65,8% sedangkan untuk menurunkan Ni 17,2% dan Cu sebesar 11.6% (Shin *et al.*, 2012).

Bakteri *Bacillus* sp. mereduksi Pb melalui adsorpsi, akumulasi intraseluler dan juga dengan presipitasi ekstraseluler. Salah satu mekanisme akumulasi intraseluler adalah dengan membentuk granula tebal di sitoplasma, *Indole Acetic Acid* (IAA) dan *siderophores* (Vishan *et al.*, 2016; Schalk *et al.*, 2011; Zaidi *et al.*, 2006). Pada akar tumbuhan *Azolla microphylla* ditemukan satu bakteri yaitu *Actinobacillus* sp. dengan probabilitas 86%. Berdasarkan hasil penelitian, *Actinobacillus* sp. mampu

menghadapi cekaman stres Zn dan Cd dengan memproduksi *siderophores* (Kuffner *et al.*, 2010). Hasil penelitian tersebut mendukung penelitian ini bahwa *Actinobacillus* sp. mampu resisten pada Pb 4 ppm. Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa *Actinobacillus* sp. juga mampu mendegradasi senyawa toksik yaitu benzene, fenol dan 2,4,6 Trinitrotoluene atau TNT yang juga bersifat toksik bagi lingkungan (Purbowati *et al.*, 2011; Nair *et al.*, 2008; Erkelens *et al.*, 2012).

Berdasarkan Tabel 1 dapat diketahui bahwa ada perbedaan dari ketiga jenis bakteri. Perbedaan morfologi koloni bakteri ini disebabkan oleh faktor lingkungan serta faktor dari genetik bakteri itu sendiri. Faktor lingkungan dapat menimbulkan perubahan morfologi koloni maupun fisiologi bakteri yang bersifat sementara ataupun permanen (Melliawati, 2009). Morfologi sel *Bacillus badius*, *Bacillus mycoides* dan *Actinobacillus* sp. adalah bentuk batang. Morfologi sel ini bergantung pada sifat genetik dari bakteri itu sendiri. Bakteri bentuk batang diketahui mampu menurunkan logam berat pada lingkungan tercemar, misalnya pada genus *Bacillus* (Afzal *et al.*, 2014; Shin *et al.*, 2012).

Berdasarkan hasil pewarnaan gram yang telah dilakukan bakteri *Bacillus badius* dan *Bacillus mycoides* termasuk bakteri gram positif. Bakteri *Actinobacillus* sp. termasuk bakteri gram negatif. Bakteri gram negatif memiliki toleransi pada logam berat yang lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri gram positif karena memiliki struktur dinding sel yang lebih kompleks yang mampu mengikat dan mengimmobilisasi logam berat (Suryani, 2011). Pada bakteri gram negatif yang berperan dalam mengikat logam Pb adalah lipopolisakarida yang merupakan komponen signifikan pada membran terluarnya. Pada bakteri gram positif yang berperan dalam mengikat logam adalah peptidoglikan bersama dengan asam teichoic dan teichuronic (Anna dan Zofia, 2014).

Berdasarkan hasil penelitian ketiga bakteri menunjukkan uji katalase positif. Uji katalase positif menunjukkan bahwa bakteri *Bacillus badius*, *Bacillus mycoides* dan *Actinobacillus* sp. dapat menghasilkan enzim katalase atau peroksidase ( $H_2O_2$ ). Peroksidase ( $H_2O_2$ ) bersifat toksik yang dapat merusak komponen sel dengan adanya enzim katalase ini, maka peroksidase akan diubah menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$  (Ulfa *et al.*, 2016). Adanya  $O_2$  yang dihasilkan dapat berperan dalam

meningkatkan *Dissolve Oxygen* di perairan sehingga meningkatkan kualitas perairan. Hasil uji oksidase *Bacillus badius*, *Bacillus mycoides* dan *Actinobacillus* sp. menunjukkan hasil oksidase positif. Hal ini menunjukkan bahwa ketiga jenis bakteri tersebut merupakan bakteri yang membutuhkan oksigen untuk metabolismenya, sehingga ketiga jenis bakteri yang ditemukan merupakan kelompok bakteri aerob. Pada kondisi oksigen yang terbatas, mikroba juga dapat menggunakan aseptor lain misalnya  $NO_3^-$ ,  $NO_2^-$ ,  $SO_4^{2-}$  dan  $CO_2$  (Ali, 2012).

Salah satu sifat fisiologis yang sama dari ketiga jenis bakteri tersebut adalah uji produksi indolnya bernilai negatif. Indole dibentuk dari metabolisme tryptophan (Anonim, 2017) dan termasuk jenis alkaloid (Yazid dan Zainul, 2005). Salah satu jenis indole adalah IAA (*Indole Acetic Acid*). IAA (*Indole Acetic Acid*) adalah hormon yang tersebar luas pada sistem asosiasi bakteri dengan tumbuhan (Zaidi *et al.*, 2006) IAA secara tidak langsung mampu meningkatkan akumulasi logam dengan meningkatkan biomassa tumbuhan (Schalk *et al.*, 2011; Babu *et al.*, 2013). Hal ini menunjukkan bahwa ketiga jenis bakteri tersebut memiliki mekanisme lain dalam menghadapi cekaman logam berat. Salah satu mekanismenya adalah dengan pembentukan *siderophores* oleh *Actinobacillus* sp. (Kuffner *et al.*, 2010).

Hasil uji fermentasi glukosa pada *Actinobacillus* sp. dan *Bacillus mycoides* menunjukkan hasil positif. Pada proses metabolisme, glukosa dapat dijadikan sebagai sumber energi yang nantinya dirubah menjadi ATP. ATP dalam proses mekanisme resisten logam berat berperan sebagai sumber energi utama dalam proses *efflux system* (Anna dan Zofia, 2014). Selain glukosa, hasil uji fermentasi sukrosa *Bacillus mycoides* juga bernilai positif. Hal ini menunjukkan bahwa satu jenis bakteri mampu melakukan fermentasi beberapa macam gula dalam proses metabolismenya.

Hasil uji *0-nitrophenyl-β-d-Galactopyranoside* (ONPG), menunjukkan bahwa *Bacillus badius* dan *Bacillus mycoides* yang termasuk dalam genus yang sama memiliki hasil uji positif, sedangkan *Actinobacillus* sp. menunjukkan hasil negatif. *0-nitrophenyl-β-d-Galactopyranoside* (ONPG) merupakan uji reduksi nitrat menjadi nitrit. Nitrit diperlukan bakteri lain dalam siklus nitrogen yang selanjutnya dimanfaatkan oleh tumbuhan (Danapriatna, 2010).

## SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa karakteristik bakteri yang ditemukan pada *Azolla microphylla* dan *Pistia stratiotes* adalah *Bacillus badius* adalah bentuk koloni irregular dengan diameter 5 cm, tepi berserabut, warna putih, karakteristik optik tidak tembus cahaya. *Bacillus badius* termasuk dalam gram negatif, bentuk batang, bernilai positif jika diuji oksidase, ONPG, VP, dan uji katalase. Karakteristik *Bacillus mycoides* adalah bentuk koloni bulat dengan diameter 0,7cm, berwarna putih, tepi rata, elevasi cembung dan karakteristik optiknya tidak tembus cahaya. *Bacillus mycoides* termasuk dalam gram positif bentuk batang, bernilai positif jika diuji oksidase, katalase, nitrat, glukosa, mannitol, ONPG, VP, Inositol dan sukrosa. Karakteristik *Actinobacillus* sp. adalah bentuk koloni bulat dengan diameter 0,3 cm, berwarna putih, tepi rata, elevasi cembung, karakteristik optiknya tidak tembus cahaya. Bernilai positif jika diuji oksidase, katalase, glukosa, xylose, urease, VP, malonate, laktosa, dan arabinose.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afzal M, Khan QM dan Sessitch A, 2014. Endophytic bacteria: Prospects and Applications for the phytoremediation of organic pollutants. *Chemosphere*, 117(1): 232-242.
- Anna J dan Zofia PS, 2014. Lead Resistance In Microorganisms. *Microbiology*, 160(2): 12-25.
- Anonim, 2017. *Microbact Biochemical Identification Kits*. [www.oxid.com](http://www.oxid.com). Diunduh pada tanggal 25 Maret 2017.
- Ali H, A Khan dan Muhammad AS, 2013. Phytoremediation Of Heavy Metals-Concepts And Applications. *Chemosphere*, 91(1): 869-881.
- Ali M. 2012. *Tinjauan Proses Bioremediasi Melalui Pengujian Tanah Tercemar Minyak*. Surabaya: UPN Press.
- Arrizal S, F Rachmadiarti dan Yuliani, 2013. "Identifikasi Rhizobakteri pada Semanggi (*Marsilea crenata*) yang Terpapar Logam Berat Timbal (Pb)". *LenteraBio*, 2(1): 165-169.
- Babu AG, Jong DK, dan Byung TO, 2013. Enhancement of Heavy Metal Phytoremediation by *Alnus* firma with Endophytic *Bacillus thuringiensis* GDB-1. *Journal of Hazardous Materials*, 250-251: 477-483.
- Danapriatna N, 2010. Biokimia Penambatan Nitrogen Oleh Bakteri Non Simbiotik. *Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah*, 1(2): 1-10.
- Delvasto P, Ballester A, Muñoz JA, González F, Blázquez ML, Igual J M, 2009. Mobilization Of Phosphorus From Iron Ore By The Bacterium *Burkholderia Caribensis* FeGL03. *Miner Eng*, 22(1): 1-9.
- Dimkpa, CO, Merten D, Svatoš A, Büchel G. dan Kothe E, 2009. Metal-Induced Oxidative Stress Impacting Plant Growth In Contaminated Soil Is Alleviated By Microbial Siderophores. *Soil Biol Biochem*, 41(1): 154-62.
- Dwijoseputro D, 1990. Ekologi Manusia dengan Lingkungannya. Jakarta: Erlangga
- Erkelens M, Eric MA, Mohammed T, Laureta TA, John A, Arthur P dan Andrew SB, 2012. Sustainable Remediation- The Application of Bioremediated Soil for Ue In The Degradation of TNT Chips. *Journal of Environmental Management*, 110(1): 69-75.
- Gusnita D, 2012. "Pencemaran Logam Berat Timbal (Pb) di Udara dan Upaya Penghapusan Bensi Bertimbal". *Berita Dirgantara*, 13(8): 95-101.
- Kuffner M, SD Maria, M Puschenreiter, K Fallmann, G Weishammer, M Gofer, J Strauss, AR Rivelli dan A Sessitch, 2010. Culturable Bacteria From Zn and Cd Accumulating *Salix caprea* with Differential Effect on Plant Growth and Heavy Metal Availability. *Journal of Applied Microbiology*, 108(1): 1471-1484.
- Luo SL, Liang C, Jue LC, Xiao X, Taoying X, Yong W, Chang R, Cheng BL, Yu TL, Cui L dan Guang MZ, 2011. Analysis and Characterization of Cultivable Heavy metal resistant Bacterial Endophytes Isolated from Cd Hyperaccumulator *Solanum nigrum* l and Their Potential use For Phytoremediation. *Chemosphere*, 85(7): 1130-1138.
- Melliawati R, 2009. *Eschericia coli* dalam Kehidupan Manusia. *Biotrends*, Vol(4):10-14.
- Mishra M, Chinmay P dan Kunja BS, 2014. Decontamination of Lead From Aquatic Environment by Exploitation of Floating Macrophyte *Azolla microphylla* Kauf. *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology (IOSR-JESTFT)*, 8(12): 17-23.
- Nair IC, Jayachandran K dan Shankar S, 2008. Biodegradation of Phenol. *Journal of Biotechnology*, 7(25): 4951-4958.
- Oktaviani R, F Rachmadiarti dan Wisanti, 2014. Potensi *Pistia stratiotes* dan *Spirogyra* Sebagai Agen Fitoremediasi Logam Berat Timbal (Pb) pada Perairan. *Lentera Bio*, 3(3): 276-181.
- Park JH, Bolan N, Megharaj M dan Naidu R, 2011. "Isolation Of Phosphate Solubilizing Bacteria And Their Potential For Lead Immobilization In Soil". *Journal Hazard Materials*, 185(1): 829-36.
- Purbowati R, Ni'matuzzahroh dan Tini S, 2011. Skrining Pertumbuhan Mikroba Hidrokarbonoklastik Hasil Isolasi Dari Tanah Tercemar Minyak Wonocolo, Bojonegoro Pada Senyawa Monoaromatik Hidrokarbon (Benzen, Toluene, dan Xilen). *Berk. Penel Hayati Edisi Khusus*, 4(3): 91-95.
- Rachmadiarti F, Soehono LA, Utomo WH, Yanuwiyadi B dan Fallowfield H, 2012.

- Resistance of Yellow Velvetleaf(*Limnocharis flava* (L.) Buch.) Exposed to Lea. *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*, 2(6): 210-215.
- Rahman MA dan H. Hasegawa, 2011. Aquatic Arsenic: Phytoremediation using Floating Macrophytes. *Chemosphere*, 83(5): 633-646.
- Rajkumar M., Ae N dan Freitas H, 2010. Endophytic Bacteria and Tehir Potential to Enhance Phytoremediation. *Syst Apl Microbiol*, 29(3): 539-556.
- Rajkumar M, S Sandhya, MNV Prasad, dan H Freitas, 2012. Perspectives of Plants-Associated Microbes In Heavy Metal Phytoremediation. *Journal Biotechnology Advances*, 30(6): 1562-1572.
- Republik Indonesia, 2001. Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air. Peraturan Pemerintah No. 82.
- Roy DC, MC Pakhira dan S Bera, 2016. A Review on Biology, Cultivation and Utilization of Azolla. *Advances in Life Science*, 5(1): 11-15.
- Schalk IJ, Hannauer M, dan Braud A, 2011. New Roles For Bacterial Siderophores In Metal Transport And Tolerance. *Environ Microbiol*, 13(11): 2844-2854.
- Shanab RAI, JS Angle dan P Van Berkum, 2014. Chromate Tolerant Bacteria For Enhanced Metal Uptake by *Eichhornia crassipes*. *International Journal of Phytoremediation*, 9(2): 91-105.
- Shin MN, Jaehong S, Youngnam Y, Hyun M, Keuk SB, Min C, Seralathan KK, Byung TO, 2012. Characterization of Lead Resistant Endophytic *Bacillus* sp. MN3-4 and Its Potential For promoting Lead Accumulation In Metal Hyperaccumulator *Alnus firma*. *Journal of Hazardous Materials*, 9(1): 314-320.
- Singh D, Archana T dan Richa G, 2012. Phytoremediation Of Lead From Wastewater Using Aquatic Plants. *Journal of Agricultural Technology*, 8(1): 1-11.
- Sood A, Perm LU, Radha P, dan Amrik SA, 2012. Phytoremediation potential of Aquatic Macrophyte Azolla. *AMBIO*, 41(2): 122-137.
- Suryani Yani, 2011. Bioremediasi Limbah Merkuri dengan Menggunakan Mikroba Pada Lingkungan yang Tercemar. *Jurnal ISTEK*, 5(1-2): 1-11.
- Ulfa A, Endang S, Mimien HI. 2016. Isolasi dan Uji Sensitivitas Merkuri pada Bakteri dari Limbah Penambangan Emas di Sekotong barat Kabupaten Lombok Barat: Penelitian Pendahuluan. *Proceeding Biology Education Conference*, 13(1): 793-799.
- Vishan I, Avishek L dan Ajay K, 2016. Biosorption of Pb(II) by *Bacillus badius* AK stain Originating from Rotary Drum Compost of Water Hyacinth. *Water Science And Technology*, 75(5-6): 1-13.
- Wani PA, Khan MS, dan Zaidi A, 2007. Effect Of Metal Tolerant Plant Growth Promoting *Bradyrhizobium* Sp. (*Vigna*) On Growth, Symbiosis, Seed Yield And Metal Uptake By Greengram Plants. *Chemosphere*, 70(1): 36-45.
- Yazid M dan Zainul A, 2005. Isolasi dan Identifikasi Bakteria untuk Remediasi Radionuklida Uranium di Dalam Lingkungan. *Prosiding PPI*: 41-47.
- Zaidi S, Usmani B, R Singh, dan J Musarrat, 2006. Significance of *Bacillus subtilis* strain SJ-101 as a bioinoculant for concurrent plant growth promotion and nickel accumulation in *Brassica juncea*. *Chemosphere*, 64(6): 991-997.