

Identifikasi Rhizobakteri pada Semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) yang Terpapar Logam Berat Timbal (Pb)

Syafuruddin Arrizal, Fida Rachmadiarti, Yuliani
Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Surabaya

ABSTRAK

Pencemaran logam timbal (Pb) di Benowo Surabaya menyebabkan kualitas air menurun. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan mengetahui karakteristik rhizobakteri pada akar *Marsilea crenata* di daerah Benowo Surabaya yang terpapar logam berat timbal sebesar 93.61 mg/kg. Jenis penelitian ini merupakan penelitian deskriptif, sampel berupa akar *Marsilea crenata* diambil dari pertanian di sekitar daerah perindustrian Benowo Surabaya, sampel akar diambil 10 gram. Parameter yang diamati berupa morfologi koloni, pewarnaan gram, dan karakteristik melalui uji biokimia menggunakan *microbact identification system*. Identifikasi rhizobakteri hasil isolasi menggunakan *Microbact software* dan Buku Cowan And Steel's Manual For The Identification Of Medical Bacteria. Third Edition, dan Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology. Eighth Edition. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif kualitatif. Hasil penelitian menunjukkan, dari hasil isolasi, karakterisasi dan identifikasi, diperoleh 3 jenis bakteri yaitu *Streptococcus agalactiae*, *Bacillus circulans*, *Xanthobacter autotrophicus* dengan koefisien kesamaan berturut-turut 90,5%, 88,2%, dan 81,5%.

Kata kunci: identifikasi; Rhizobakteri; Timbal (Pb); *Marsilea crenata*

ABSTRACT

The pollution of plumbum in Benowo, Surabaya cause the decrease of water quality. The objective of this research were to identification and to know characteristic of rhizobacteria in *Marsilea crenata*'s roots in the farm of Benowo, Surabaya that flated plumbum 93.61mg/Kg. This research was descriptive research. The sample were 10 gram *Marsilea crenata*'s roots took from Benowo farm. The obseroation parameter were colony morphology, gram coloration, and characteristic of biochemistry test with *Microbact Identification System*. The identification of rhizobacteria isolate with *Microbact Software* dan buku Cowan and Steel's Manual for Identification of Medical Bacteria Third Edition and Bargey's Manual of Determinative Bacteriology Eight Edition. Data were analyzed descriptive qualitatively. The results indicated that characteristic and identification isolate, there are three bacteries, *Streptococcus agalactiae*; *Bacillus circulans* and *Xanthobacter autrophicus* with similary koefisiens is 90,5%, 88,2% and 81,5%.

Key words: identification; Rhizobacteria; Plumbum; *Marsilea crenata*

PENDAHULUAN

Pengolahan limbah secara biologi dapat dilakukan melalui proses biofiltrasi dengan menggunakan tanaman air sebagai media penyerap ialah salah satu upaya untuk mengolah kembali limbah yang telah mencemari perairan. Salah satu cara pengolahan limbah adalah dengan bantuan rhizobakteri yang terdapat pada akar tanaman air salah satunya adalah Semanggi (*Marsilea crenata*). Hal ini disebabkan karena rhizobakteri mempunyai potensi untuk mengikat logam berat. Bakteri yang tahan terhadap toksisitas logam berat mengalami perubahan sistem transpor di membran selnya, terjadi penolakan atau pengurangan logam yang masuk

ke dalam sitoplasma. Logam yang tidak dapat melewati membran sel akan terakumulasi dan diendapkan atau diserap di permukaan sel (Sumarsih, 2008).

Pengikatan logam berat oleh bakteri dapat dipisahkan menjadi fase pengikatan dan transport aktif (Gadd, 1992 dalam Wulandari *et al*, 2005). Fase pengikatan tergantung pada metabolisme sel yaitu absorpsi melalui dinding sel atau permukaan eksternal, kemudian diikuti dengan transport aktif yang tergantung pada metabolisme sel. Pada proses metabolisme, logam berat dapat terakumulasi pada membran sel (ekstraseluler) dan pada sitoplasma (intraseluler).

Akumulasi ekstraseluler dapat terjadi karena pengikatan ion-ion logam oleh polimer ekstraseluler atau polisakarida ekstraseluler yang dihasilkan sel-sel mikroba dan komplikasi antara ion-ion logam yang bermuatan positif dengan sisi reaktif pada permukaan sel yang bermuatan negatif. Sedangkan akumulasi intraseluler dapat terjadi karena proses difusi yang tidak membutuhkan aktifitas mikroba secara langsung dimana gen-gen yang mengendalikan plasmid dalam proses metabolisme tersebut (Oktaviana, 1995 dalam Wulandari *et al*, 2005).

Mengingat peran rhizobakteri yang sangat besar dalam proses bioremediasi maka perlu dilakukan penelitian tentang identifikasi rhizobakteri pada tanaman semanggi (*Marsilea crenata*) yang terpapar logam berat timbal (Pb).

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli 2012, merupakan penelitian deskriptif karena mengambil sampel langsung dari budidaya semanggi di kawasan Benowo Surabaya. Isolasi dan inokulasi rhizobakteri pada akar semanggi (*Marsilea crenata*) dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Airlangga. Uji fisiologis untuk identifikasi dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Airlangga. Uji logam berat Timbal (Pb) dilakukan di laboratorium Studi dan Rekayasa Institut Teknologi Surabaya.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Sampel akar tanaman Semanggi (*Marsilea crenata*) yang diambil dari budidaya semanggi di Benowo Surabaya. Media KNA (*Kaldu Nutrient Agar*). Media *Czapex Broth* dengan penambahan senyawa timbal-asetat $Pb(CH_3COO)_2$ 0,936 ppm untuk Semanggi (*Marsilea crenata*). Bahan pewarnaan gram terdiri dari: Kristal violet, iodine, Ethyl Alkohol 95%, Safranin. Media modifikasi *Czapex* tanpa sukrosa, spiritus, akuades, Aluminium foil, kapas, kertas label, kertas saring, tissue.

Isolasi rhizobakteri dilakukan dengan cara menghomogenkan 10 gram sampel akar dimasukkan ke dalam 90 ml akuades steril, Kemudian diambil 1 ml dan dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi media *Czapex Broth* tanpa sukrosa dengan larutan Pb-asetat 0,936 ppm (dilakukan pengenceran), dan sampel tersebut diinkubasi pada suhu 30 °C selama 7 hari, sampel yang telah diinkubasi selama 7 hari diinokulasi dengan menggunakan metode tuang (*Pour plate method*) sebanyak 1 ml ke dalam cawan petri yang berisi media KNA dan diinkubasi pada suhu 30 °C. Bakteri yang tumbuh diinokulasikan pada tabung reaksi yang berisi media KNA hingga

didapatkan isolate murni. Koloni bakteri yang tumbuh diamati secara morfologi, pewarnaan gram dan uji fisiologis.

Pengamatan morfologi meliputi 1. Bentuk koloni, 2. Diameter koloni, 3. Warna koloni, 4. Tepi koloni, 5. Elevasi. Uji fisiologis menggunakan *Microbact Identification System*, uji ini digunakan untuk mengetahui karakteristik fisiologis bakteri gram negatif, sehingga diketahui genus dan jenis bakteri. Format dalam bentuk test-strip atau microplate yang sederhana, hasil dengan jelas terlihat sebagai reaksi-reaksi warna berbeda yang dapat diinterpretasikan menggunakan *Microbact*. Setiap kit terdiri dari 12 (12A, 12B) atau 24 (24E) miniatur tes biokimia. Identifikasi organisme didasarkan pada perubahan pH dan pemakaian substrat. Prosedur penggunaan *microbact* adalah sebagai berikut: Mendapatkan suatu kultur murni bakteri tersangka berusia 18-24 jam, Melakukan tes oksidase untuk menentukan pilihan kit yang akan dipakai, Membuat suspensi bakter dengan melarutkan dalam saline (garam fisiologis), Menambahkan 100µl suspensi (4 tetes) suspensi ke setiap lubang kit, Menambahkan mineral oil ke lubang-lubang yang berwarna hitam, Menginkubasi pada suhu 35°C +/- 2°C selama 18/24 jam, Memindahkan dari inkubator dan menambahkan reagen yang sesuai yaitu: Nitrate reduction test (o-nitrophenyl-β-d galactopyronoside (ONPG)) Diletakkan pada lubang 7(ONPG) setelah pembacaan ONPG reaksi, yaitu satu tetes nitrate reagen A dan nitrate reagen B. 2 tetes reagen indole pada lubang 8 dibaca dalam 2 menit, Masing-masing 1 tetes reagen VP I dan VP II pada lubang 10 dibaca dalam 15-30 menit, 1 tetes reagent TDA pada lubang 12 dibaca seketika. Karakter fisiologis yang diuji yaitu: Oksidase, Motility, Nitrate, Lysine, Ornithine, H₂S, Glucose, Mannitol, Xylose, ONPG, Indole, Urease, V.P, Citrate, TDA, Gelatin, Malonate, Inositol, Sorbitol, Rhamnose, Sucrose, Lactose, Arabinose, Adonitol, Raffinose, Salicine, Arginine. Mencatat perubahan warna pada setiap lubang di kit setelah diinkubasi menggunakan chart warna yang disediakan dan menambahkan penjumlahan dari hasil positif untuk memberikan satu kode oktal, Memasukkan kode oktal ke dalam komputer dan menentukan identitas dari organisme menggunakan *microbact software*.

Untuk menentukan identifikasi bakteri gram positif menggunakan buku *Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology Eighth Edition* dan *Cowan And Steel's Manual For The Identification Of Medical Bacteria Third Edition*. Untuk menentukan bakteri yang sesungguhnya

menggunakan rumus koefisien kesamaan atau *percent probability* yaitu:

$$\text{Koefisien kesamaan} = \frac{A}{A+B+C} \times 100\%$$

Keterangan:

A: Ciri positif untuk kedua galur

B: Ciri positif galur satu, ciri negatif galur dua

C: Ciri negatif galur satu, ciri positif galur dua

HASIL

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh data rhizobakteri hasil isolasi dari akar Semanggi (*Marsilea crenata*) yang terpapar logam berat timbal (Pb) yang ditumbuhkan dalam media *czapex broth* yang diberi logam Pb sebesar 0.936 ppm.

Spesies rhizobakteri diperoleh dari pengamatan morfologi koloni, pewarnaan gram, karakteristik fisiologi melalui uji biokimia menggunakan Microbact identification system. Hasil uji bakteri gram positif dicocokkan dengan buku Cowan and Steel's Manual for The Identification of Medical Bacteriology dan Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Eighth Edition yang dilakukan di laboratorium mikrobiologi Universitas Airlangga.

Tabel 1. Tabel Spesies rhizobakteri hasil isolasi dari akar semanggi (*Marsilea crenata*) yang terpapar logam berat Pb

No	Kode Isolat Bakteri	Hasil Identifikasi	
		Nama Spesies	Percent Probability
1.	A1 (gram positif)	<i>Streptococcus agalactiae</i>	90,5(%)
2.	A2,1k (gram positif)	<i>Bacillus circulans</i>	88,2(%)
3.	A2,2b (gram positif)	<i>Xanthobacter autotrophicus</i>	81,5(%)

Keterangan :

A1, A2,1k dan A2,2b : bakteri hasil isolasi dari akar semanggi (*Marsilea crenata*)

PEMBAHASAN

Identifikasi spesies rhizobakteri hasil isolasi dari Semanggi (*Marsilea crenata*) yang Terpapar Logam Berat Pb sebesar 0,936 ppm di Benowo Surabaya, yang ditumbuhkan dalam media *Czapex Broth* dengan penambahan logam Pb sebesar 0,936 ppm, mendapatkan 3 macam isolat rhizobakteri. Yaitu *Streptococcus agalactiae*, *Bacillus circulans*, *Xanthobacter autotrophicus*.

Ketiga rhizobakteri hasil isolasi dari akar *Marsilea crenata* yang tahan terhadap paparan logam berat Pb dan keberadaan rhizobakteri pada akar tanaman dikarenakan adanya asosiasi antara

akar tanaman dan rhizobakteri, rhizobakteri merupakan bakteri di sekitar perakaran yang mempengaruhi dan dipengaruhi kegiatan perakaran, yaitu antara mikroorganisme dan akar terjadi interaksi, artinya aktivitas mikroorganisme di dalam zona tersebut akan dipengaruhi oleh eksudat akar yang diproduksi. Eksudasi yang berupa getah yang dikeluarkan oleh akar yang baik secara langsung mempengaruhi kuantitas dan kualitas mikroorgainsme di daerah perakaran (Fauzi, 2010).

Bakteri mampu beradaptasi dengan limbah Pb yang terdapat di perairan, dalam metabolismenya logam berat Pb terakumulasi pada membran sel (ekstraseluler) dan pada sitoplasma (intraseluler). Oktaviana (1995) dalam Wulandari *et al* (2005) menyatakan bahwa akumulasi ekstraseluler pada bakteri dapat terjadi karena pengikatan ion-ion logam oleh polimer ekstraseluler atau polisakarida ekstraseluler yang dihasilkan sel-sel mikroba dan gabungan antara ion-ion logam yang bermuatan positif dengan sisi reaktif pada permukaan sel yang bermuatan negatif. Sedangkan akumulasi intraseluler pada bakteri dapat terjadi karena proses difusi yang tidak membutuhkan aktivitas mikroba secara langsung dimana-mana gen-gen mengendalikan plasmid dalam proses metabolisme tersebut. Pengikatan logam berat oleh bakteri dapat dipisahkan menjadi fase pengikatan dan transport aktif (Gadd, 1992) dalam Wulandari *et al* (2005). Fase pengikatan tergantung pada metabolisme sel yaitu absorpsi melalui dinding sel atau permukaan eksternal, kemudian diikuti dengan transport aktif yang tergantung pada metabolisme sel. Pada proses metabolisme, logam berat dapat terakumulasi pada membran sel (ekstraseluler) dan pada sitoplasma (intraseluler) (Oktaviana, 1995) dalam Wulandari *et al* (2005). Akumulasi ekstraseluler dapat terjadi karena pengikatan ion-ion logam oleh polimer ekstraseluler atau polisakarida ekstraseluler yang dihasilkan sel-sel mikroba dan komplikasi antara ion-ion logam yang bermuatan positif dengan sisi reaktif pada permukaan sel yang bermuatan negatif. Sedangkan akumulasi intraseluler dapat terjadi karena proses difusi yang tidak membutuhkan aktivitas mikroba secara langsung dimana gen-gen yang mengendalikan plasmid dalam proses metabolisme tersebut.

Interaksi antara tanaman dan bakteri ini dapat membantu mengurangi pencemaran yang disebabkan karena logam berat, hal ini dibuktikan dalam penelitian Wulandari *et al*, (2005) tentang identifikasi bakteri pengikat timbal

(Pb) pada sedimen di perairan sungai siak menunjukkan bahwa ditemukan bakteri pengikat timbal pada sedimen di perairan sungai siak pekanbaru berkisar antara $3,0 \times 10^7$ sampai $1,5 \times 10^8$ sel/ml. isolat bakteri pengikat Pb (timbal) pada sedimen diperairan siak pekan baru yang ditemukan 6 jenis yaitu *Microoccus*, *Corynebacterium*, *Phenylobacterium*, *Enhydrobacter*, *Morrococcus*, *Flavobacterium*.

Beberapa mikroorganisme melepaskan berbagai molekul pengikat besi yang disebut siderofor yang merupakan Fe^{3+} yang kompleks. Secara external membentuk kelat besi sesudah itu berinteraksi dengan sel sedemikian sehingga besi mengakumulasi secara intracellular. Sebagian dari siderofor mungkin secara kuat mengkelat logam lain seperti, gallium, nikel dan senyawa analog yang telah diproduksi selama pertumbuhan (Edward, 1990).

Sebagian besar mekanisme pembersihan logam berat oleh mikroorganisme adalah proses pertukaran ion. Mekanisme ini dapat dibagi atas 3 cara yakni berdasarkan metabolisme sel (dibagi atas; proses yang bergantung pada metabolisme dan proses yang tidak bergantung pada metabolisme sel). Sedangkan jika berdasarkan posisi logam berat di-*remove*, dapat dibagi atas; akumulasi ekstraseluler (presipitasi), akumulasi intraseluler dan penyerapan oleh permukaan sel. Dan untuk mekanisme yang terakhir adalah berdasarkan cara pengambilan (absorpsi) logam berat. Absorpsi logam berat dapat dibagi 2 yaitu passive uptake dan aktif uptake (Putra, 2006)

Asosiasi antara tanaman dan rhizobakteri lebih efisien dan cepat untuk mengurangi tingkat pencemaran logam di lingkungan, karena tanaman memiliki mekanisme khusus untuk mengurangi tingkat pencemaran logam, begitu juga dengan bakteri.

Dengan diperolehnya data-data berupa ciri-ciri morfologi dan fisiologis, maka akan dapat ditentukan jenis bakteri hasil isolasi dari akar *marsilea crenata* yang terpapar logam berat timbal (Pb), bakteri yang berhasil diisolasi berdasarkan Microbact Identification Kit adalah *Streptococcus agalactiae*, *Bacillus circulans*, *Xanthobacter autotrophicus* dicocokkan dengan buku Cowan and Steel's Manual for The Identification of Medical Bacteriology, dan Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Eighth Edition.

Streptococcus agalactiae merupakan bakteri gram positif, motil, oksidase positif, tidak mempunyai enzim desulfurase karena tidak mampu menghasilkan H_2S , tes negatif pada uji H_2S . Tes negatif pada uji TDA (Tryptophan Deaminase), karena bakteri tidak memiliki enzim

tryptophan deaminase, sehingga tidak dapat membentuk asam indolepiruvate dari tryptophan yang menghasilkan warna coklat dengan adanya ion ferric dari *TDA reagent*, ini merupakan suatu reaksi negatif. Bakteri ini mampu melakukan fermentasi karbohidrat pada substrat uji Glukose, Mannitol, Xylose, Inositol, Sorbitol, Rhamnose, Sucrose, Lactose, Arabinose, Adonitol, Raffinose, Salicin. Kemampuan bakteri melakukan fermentasi karbohidrat ditandai dengan adanya produksi asam organik (asam asetat, asam laktat, asam formiat dan asam suksinat) dan gas (karbon dioksida dan hidrogen).

Bacillus circulans negatif pada uji indole karena tidak memiliki enzim triptopanase sehingga tidak mampu mendegradasi asam amino tryptophan, mempunyai enzim citrate permease, sehingga positif pada uji citrat. Beberapa bakteri dapat menggunakan citrate sebagai sumber energi apabila tidak ada glukosa atau laktosa, hal ini dapat terjadi pada bakteri yang memiliki enzim citrate permease. Memiliki enzim urease, positif pada uji urease, Urea dengan adanya enzim urease akan diubah menjadi karbon dioksida dan amoniak. Mempunyai enzim dekarboksilase, Reaksi dekarboksilasi dari suatu asam amino merupakan reaksi pemecahan gugus karboksil oleh enzim dekarboksilase, sehingga dihasilkan amin dan karbon dioksida. Uji dekarboksilase asam amino dilakukan dengan menggunakan 3 substrat asam amino yaitu lysine, Ornithine, dan Arginin, *Bacillus circulans* menunjukkan reaksi positif pada ketiga substrat asam amino.

Xanthobacter autotrophicus mempunyai enzim β -galaktosidase sehingga dapat menghidrolisa ONPG (o-nitrophenyl- β -d-galactopyranoside), positif pada uji ONPG. Dapat mereduksi nitrate, positif pada uji nitrate. *Xanthobacter autotrophicus* positif pada uji V-P (Voges-Proskauer), uji ini digunakan untuk mendeteksi adanya acetoin (asetil-metil karbinol). positif pada uji gelatin dan malonate. Dalam microbact software berdasarkan karakter fisiologis tersebut merupakan bakteri *Xanthobacter autotrophicus* dengan persen kesamaan sebesar 81,5%.

Aktivitas metabolisme tidak terlepas dari adanya enzim, enzim-enzim yang dimiliki dari keempat isolat bakteri yang ditemukan membantu memecah ikatan senyawa kompleks antara bahan organik dan logam berat, sehingga logam berat mudah didetoksifikasi oleh bakteri. Saat bioremediasi terjadi, enzim-enzim yang diproduksi mikroorganisme memodifikasi (mengubah) polutan beracun dengan mengubah struktur kimia polutan tersebut. Selanjutnya polutan beracun terdegradasi (terurai) atau

mengalami perubahan bentuk. Struktur kimianya menjadi tidak kompleks atau berubah bentuk, dan akhirnya menjadi metabolit (bahan) yang tidak berbahaya serta tidak beracun (Anonim, 2009), dari karakteristik isolat bakteri yang didapat menunjukkan bahwa bakteri mampu hidup di daerah tercemar logam berat.

SIMPULAN

Rhizobakteri hasil isolasi dari akar tanaman *Marsilea crenata* yang terpapar logam berat timbal (Pb) yaitu *Streptococcus agalactiae*, *Bacillus circulans*, *Xanthobacter autotrophicus* dengan koefisien kesamaan berturut-turut 90,5%, 88,2%, dan 81,5%.

Bakteri *Streptococcus agalactiae* hasil isolasi dari akar tanaman *Marsilea crenata* yang terpapar logam berat timbal (Pb) memiliki karakteristik diantaranya gram positif, koloni berbentuk bulat, diameter 0,5-1mm berwarna putih, mempunyai tepi rata, elevasi cembung dan karakteristik optik tidak tembus cahaya, mengalami reaksi negatif bila diuji pada glucose, xylose, H₂S, Manitol, indol, TDA, inositol, sorbitol Rhamnose, sucrose, lactose, arabinose, adonitol, raffinose dan salicin sedangkan mengalami reaksi positif jika diuji pada Lysin, ornithine, ONPG, nitrat, urease, VP, citrate, gelatin, malonate, arginin, oksidase dan katalase, oksidase positif, motil, dan dapat mereduksi nitrat.

Bacillus circulans, memiliki karakteristik diantaranya gram positif, koloni berbentuk bulat, diameter 1-2 mm berwarna putih, mempunyai tepi rata, elevasi cembung dan karakteristik optik tidak tembus cahaya bakteri dengan oksidase positif, motil, mengalami reaksi positif bila diuji pada Xylose, manitol, glucose, H₂S, Ornithine, lysine, urease, VP, citrate, TDA, gelatin, malonat, arginin, dan katalase. dan reaksi negatif bila ditanam pada media ONPG, Nitrat, indol, TDA, inositol, sorbitol, rhamnose, sucrose, lactose, arabinose, adonitol, raffinose, salicin.

Xanthobacter autotrophicus memiliki karakteristik diantaranya gram positif, koloni berbentuk bulat, diameter 1-2 mm berwarna putih, mempunyai tepi rata, elevasi cembung dan karakteristik optik transparan, bakteri dengan

oksidase positif, motil dan dapat mereduksi nitrat, mengalami reaksi positif pada uji arginin, katalase, Lysine, Ornithine, H₂S, ONPG, Urease, VP, citrate, gelatin, malonate. Mengalami reaksi negatif pada uji Glucose, manitol, xylose, indol, TDA, inositol, sorbitol, rhamnose, sucrose, lactose, arabinose, adonitol, raffinose, salicin..

DAFTAR PUSTAKA

- Anonym. 2009. Detoksifikasi Logam Berat Menggunakan Bakteri Indigenous Pada Leachate TPA Gunung Tugel Kabupaten Banyumas. Diakses melalui <http://mikroandme.wordpress.com/2009/03/01/detoksifikasi-logam/>. Tanggal 05 November 2012.
- Edward. 1990. Dampak Pencemaran Logam Berat Terhadap Kualitas Air Laut di dan Sumberdaya Perikanan (Studi Kasus Kematian Massal Ikan-Ikan Di Teluk Jakarta). Makara, Sains, Vol. 8, No. 2, Agustus 2004: 52-58.
- Fauzi G, 2010. Eksudat Akar Terhadap Mikro. Diakses melalui <http://www.scribd.com/doc/28328976/Eksudat-Akar-Thdp-Mikro> Tanggal 28 oktober 2012
- Putra JA, 2006. *Bioremoval, Metode Alternatif Untuk Menanggulangi Pencemaran Logam Berat*. Diakses melalui <http://www.chemistry.org/artikelkimia/biokimia/bioremoval> metode alternatif untuk menanggulangi pencemaran logam berat/. Tanggal 07 desember 2012.
- Sumarsih. 2008. Mikroba Dan Lingkungan Diakses melalui <http://sumarsih07.files.wordpress.com/2008/11/vii-mikroba-dan-lingkungan.pdf> Tanggal 2 Desember 2011.
- Wulandari Sri, Nila Fitri Dewi, dan Suwondo. 2005. Identifikasi Bakteri Pengikat timbal (Pb) Pada Sedimen Di Perairan Sungai Siak. Proram Studi pendidikan Biologi FMIPA Universitas Riau.