

## Isolation and characterization of indigenous copper resistant bacteria from Yogyakarta tannery factory waste

Wahyu Irawati<sup>1\*</sup>, Polin Parulian Ambarita<sup>1</sup>, Desi L. Sihombing<sup>1</sup>, Vannesa El Shaday Ruth Advenita<sup>1</sup>, Eunike Bunga Marvella<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Ilmu Pendidikan, Universitas Pelita Harapan, Tangerang, Indonesia;

<sup>2</sup>Jurusan Sains, Sekolah Menengah Atas, BPK Penabur Gading Serpong, Tangerang, Indonesia

### Article History

Received : July 20<sup>th</sup>, 2022

Revised : August 09<sup>th</sup>, 2022

Accepted : August 14<sup>th</sup>, 2022

\*Corresponding Author:

Wahyu Irawati,

Universitas Pelita Harapan,  
Tangerang, Indonesia

Email: [w.irawati3@gmail.com](mailto:w.irawati3@gmail.com)

**Abstract:** The leather tanning industry is one of the industries that causes environmental damage because one of the processes uses copper to produce products such as bags, jackets, and shoes. Copper bioremediation using indigenous bacteria is an effective solution to the problem of pollution because it utilizes bacteria isolated from the polluted environment. This study aims to isolate and characterize copper-resistant bacteria from the waste of the Yogyakarta Tannery Industry. The medium used was Luria Bertani Agar with the addition of 3 mM CuSO<sub>4</sub>. The characterization carried out included the characterization of colony and cell morphology such as color, edges, optical appearance, cell shape, and Gram staining. The isolation results obtained eight isolates of copper-resistant bacteria, namely Y1, Y2, Y3, Y4, Y5, Y6, Y7, and Y8. Isolates Y1, Y2, Y3, Y4, Y5, and Y8 were Gram positive bacteria while isolates Y5 and Y6 were Gram negative bacteria. Colonies of isolates Y1, Y3, Y4, Y8 greenish color indicates the accumulation of copper in the cells as a mechanism of resistance. The discovery of isolates of copper-resistant bacteria from samples of the tannery industry waste is a useful study as an initial study to obtain isolates of Indonesian indigenous copper-resistant bacteria to be further developed as a copper bioremediation agent in the treatment of copper waste in the leather tanning industry.

**Keywords:** Indigenous bacteria; bioremediation; colony; resistant; copper

### Pendahuluan

Air merupakan komponen yang sangat penting bagi keberlangsungan makhluk hidup. Sebagai komponen abiotik, air menjadi salah satu media tumbuh makhluk hidup baik yang berukuran makroorganisme maupun mikroorganisme (Irawati & Tahya, 2022). Masyarakat yang bergantung pada air dapat mengubah fungsi air jika kualitas air tidak dipelihara dengan baik. Indikator atau parameter kimia yang dapat digunakan untuk mengukur kualitas air yaitu perubahan pH dan oksigen terlarut atau DO (*Dissolved oxygen*). Semakin banyak jumlah DO (*Dissolved oxygen*) maka kualitas air semakin baik, karena limbah dapat menurunkan jumlah DO (Oktafeni, 2016). Kadar oksigen terlarut dalam air yang terlalu rendah

menimbulkan bau yang tidak sedap akibat degradasi anaerobik (Firra et al., 2016).

Keadaan lingkungan air dipengaruhi oleh aktivitas masyarakat yang tinggal di sekitar perairan tersebut (Pratama et al., 2020). Masyarakat yang tinggal di dekat perairan melakukan aktivitas di bidang pertanian, perdagangan, rumah sakit, perikanan, dan di berbagai macam industri pabrik lainnya. Limbah yang dihasilkan dari penggunaan pupuk kimia pada pertanian, plastik, pakaian, pewarna dan zat-zat kimia pada limbah pabrik berbahaya atau bersifat toksik untuk masyarakat maupun organisme yang hidup di dalam perairan (Santosa, 2013). Aktivitas industri seperti industri penyamakan kulit dapat memberikan masukan limbah berbahaya seperti logam berat yang bersifat racun dan persisten serta mudah

terakumulasi melalui jaring jaring makanan (Kurniawan & Sukandar, 2017)

Salah satu industri penyamakan kulit di Yogyakarta berperan dalam mengolah berbagai bahan dasar kulit menjadi barang siap pakai seperti, koper, tas, sepatu, atau jaket (Solihah *et al.*, 2020). Selain memiliki dampak yang positif terhadap pertumbuhan ekonomi, industri penyamakan kulit menjadi salah satu ancaman utama terhadap kerusakan lingkungan hidup karena menghasilkan pencemaran akibat penggunaan bahan kimia (Oktafeni, 2016). Limbah industri pabrik penyamakan kulit juga mengandung logam esensial seperti tembaga. Tembaga adalah jenis logam berat esensial yang dibutuhkan oleh makhluk hidup namun bersifat toksik dalam jumlah yang besar (Nurhamiddin & Ibrahim, 2018). Dalam air, logam berat akan berikatan dengan senyawa kimia. Air yang mengandung tembaga (Cu) bila dikonsumsi oleh manusia dapat menyebabkan berbagai dampak buruk terhadap kesehatan. Beberapa dampak buruk yang dimungkinkan terjadi diantaranya seperti mual, penyakit minamata, bibir sumbing, kerusakan susunan saraf, cacat pada bayi, karsinogenitas, terganggunya fungsi imun, muntah, sakit perut, kejang dan efek yang lebih fatal adalah dapat menyebabkan kematian (Sekarwati *et al.*, 2015).

Pengelolaan pabrik industri penyamakan kulit melibatkan berbagai aktivitas fisik, kimia, maupun biologis (Said & Likadja, 2012). Organisme yang mampu bertahan hidup pada air tercemar yaitu bakteri resisten tembaga yang dapat mengakumulasi tembaga (Irawati, 2019). Pencemaran yang berlangsung lama memungkinkan bakteri beradaptasi dan berkembang dalam air tercemar tembaga. Bakteri yang bertahan hidup pada perairan tercemar dapat digunakan untuk proses bioremediasi. Pengolahan air tercemar secara biologis dilakukan dengan menggunakan prinsip *self-purification* dalam degradasi limbah dengan menggunakan bantuan mikroorganisme (Priadie, 2012). Bioremediasi merupakan teknik biologi untuk menyisihkan atau menghilangkan polutan dari lingkungan tercemar dengan menggunakan agen biologi seperti bakteri (Melati, 2020). Teknik bioremediasi dapat dilakukan secara *in situ* dan *ex situ*. Teknik bioremediasi *in situ* melibatkan pengolahan polutan atau zat pencemar langsung di tempat yang tercemar.

Teknik bioremediasi *in situ* dilakukan dengan metode pemulihan secara alami, seperti fitoremediasi, bioventing, bioaugmentasi dan biosparging. Sedangkan bioremediasi *ex situ* merupakan teknik pemindahan mikroorganisme dari tempat asal atau dari air tercemar ke tempat biak bakteri pertumbuhan. Teknik ini dilakukan dengan bioreaktor, *landfarming* dan *vermicomposting*. Bioreaktor adalah pemindahan mikroorganisme ke suatu tempat biak buatan dimana terjadi perubahan proses fermentasi yang dikendalikan oleh suatu mikroba dalam lingkungan yang terkendali.

Keberhasilan aktivitas bioremediasi dipengaruhi oleh beberapa factor yang meliputi konsentrasi oksigen, kebutuhan nutrisi, suhu, pH, dan faktor abiotik lainnya. Proses pemulihan alami dapat terjadi karena terjadi aktivitas degradasi mikroorganisme indigen yang diisolasi dari lingkungan tercemar dan memiliki kemampuan detoksifikasi senyawa beracun (Melati, 2020). Irawati dan Tahya (2020) mengatakan bahwa bakteri indigen merupakan isolat bakteri yang memiliki ketahanan atau resistensi terhadap air tercemar tembaga dengan cara mengakumulasi tembaga di dalam sel.

Bakteri indigen memiliki kemampuan dalam mendegradasi polutan di air sehingga tingkat pencemaran air akan menurun. Bakteri indigen didapat melalui proses isolasi bakteri. Sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Tanjung *et al.*, 2018, bakteri indigen yang resisten terhadap tembaga diharapkan mampu menguraikan tembaga dengan cara memanfaatkan tembaga menjadi sumber energi. Bakteri resisten tembaga dapat diisolasi dari lokasi tercemar tembaga seperti limbah pabrik penyamakan kulit sehingga diharapkan bakteri indigen ini memiliki resistensi terhadap tembaga dan dapat dijadikan sebagai agen bioremediasi untuk menyerap tembaga dari lingkungan tercemar. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan isolasi dan karakterisasi bakteri resisten tembaga dari limbah pabrik penyamakan kulit di Yogyakarta sebagai penelitian awal untuk mendapatkan isolat-isolat bakteri yang tahan terhadap tembaga.

## **Bahan dan Metode**

### **Pembuatan Medium**

Bakteri diisolasi dari limbah penyamak kulit dari pabrik kulit di Yogyakarta yang menggunakan tembaga dalam proses penyamakan kulit. Medium isolasi yang digunakan adalah medium diperkaya Luria Bertani Agar (LBA) merek Lubbenex dengan komposisi: agar 15.0g, tripton 10.0g, sodium klorida 10.0g, ekstrak khamir 5.0g. Tembaga yang digunakan adalah  $\text{CuSO}_4$ , dibuat dalam bentuk stock cairan 1 Molar. Medium isolasi dibuat dengan melarutkan 40g LBA dengan akuades kemudian dipanaskan hingga mencair dan di sterilkan menggunakan autoklaf pada suhu  $121^\circ\text{C}$  dan tekanan 1 atm selama 15 menit. Larutan 1 M  $\text{CuSO}_4$  di berikan pada medium LBA steril secara aseptis untuk mencapai konsentrasi 3 mM. Medium LBA yang mengandung 3 mM tembaga tersebut dituangkan ke dalam cawan petri secara aseptis dan ditunggu selama 1 jam hingga memadat. Medium yang telah padat dibalik untuk menghindari terjadinya kontaminasi yang berasal dari tetesan uap air saat menuang medium (Irawati *et al.*, 2020).

#### Isolasi bakteri resisten tembaga

Metode yang digunakan untuk isolasi bakteri resisten tembaga adalah metode sebar. Metode sebar (*spread plate*) merupakan teknik menumbuhkan mikroorganisme di medium Luria Bertani Agar dengan cara menuangkan stok kultur bakteri di atas medium agar padat. Metode sebar memiliki kelebihan dan kekurangan dimana dengan metode sebar dapat memperkirakan jumlah bakteri dalam satu sel namun sulit untuk menumbuhkan koloni secara merata karena pada penggunaan batang perata segitiga rentan terhadap kontaminasi (Damayanti, Abdi, & Bintari, 2020). Sebanyak 100 mikroliter sampel limbah pabrik kulit diinokulasikan ke dalam medium LBA yang mengandung 3 mM  $\text{CuSO}_4$  kemudian diratakan ke seluruh bagian medium tumbuh menggunakan batang gelas hingga semua air limbah meresap ke dalam medium serta diinkubasikan selama 24 jam di dalam inkubator dengan suhu  $37^\circ\text{C}$ . Konsentrasi 3 mM  $\text{CuSO}_4$  dipilih untuk memastikan bahwa yang tumbuh pada medium adalah bakteri resisten tembaga karena konsentrasi tersebut merupakan batas terendah toksisitas tembaga terhadap bakteri. Proses inokulasi bakteri dilakukan secara aseptis di

dalam laminar dan di depan api bunsen untuk menghindari kontaminasi bakteri lain sehingga dapat dipastikan yang tumbuh pada medium tersebut adalah bakteri yang berasal dari limbah penyamak tekstil di Yogyakarta.

#### Karakterisasi isolat bakteri resisten tembaga

Koloni bakteri yang tumbuh pada medium kemudian dilakukan seleksi, pemberian kode isolat, dan pemurnian isolat bakteri resisten tembaga. Karakterisasi isolat bakteri yang dilakukan meliputi warna koloni, tepi koloni, bentuk koloni, penampakan optik, serta pewarnaan gram (Putri *et al.*, 2014). Adapun koloni bakteri yang dikarakterisasi merupakan *single* koloni yang sudah diyakini tidak terkontaminasi oleh koloni bakteri lainnya. Karakterisasi 1 koloni akan membantu dalam proses analisis isolat tunggal. Pewarnaan gram serta pengamatan mikroskopis dilakukan dengan tujuan untuk dapat mengetahui jenis membran sel bakteri serta bentuk sel pada isolat bakteri (Agustine *et al.*, 2018). Hasil pewarnaan isolat bakteri pada tahapan pewarnaan gram terbagi atas dua kelompok yaitu bakteri gram positif dan gram negatif. Pewarnaan Gram dengan mudah membedakan antara organisme dengan membran sel dalam dan luar (Gram-negatif) dan bakteri yang hanya memiliki satu membran sel tunggal yang dikelilingi oleh dinding sel (Gram positif) (Solioz *et al.*, 2010).

#### Hasil dan Pembahasan

Isolasi bakteri dari sampel limbah penyamakan kulit Yogyakarta menunjukkan adanya pertumbuhan komunitas bakteri dengan morfologi beragam pada medium 3 mM  $\text{CuSO}_4$  (Gambar 1). Beberapa bakteri yang mampu bertahan hidup di lingkungan tercemar tembaga akan membentuk komunitas bakteri resisten tembaga. Komunitas bakteri yang tumbuh pada medium 3 mM  $\text{CuSO}_4$  hanya sedikit bahkan pada Gambar 1A hanya ada sedikit koloni bakteri. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi 3 mM  $\text{CuSO}_4$  merupakan kondisi toksik bagi komunitas bakteri dari limbah pabrik penyamakan kulit di Yogyakarta. Ahmad (2012) mengatakan bahwa tembaga dengan konsentrasi tinggi memiliki efek yang besar pada komunitas mikroba dengan cara (i) pengurangan total biomassa mikroba, (ii) penurunan jumlah populasi tertentu, atau (iii) perubahan struktur komunitas mikroba. Irawati,

Pinontoan, & Yuwono (2020) mengatakan bahwa  $\text{CuSO}_4$  konsentrasi tinggi akan menurunkan jumlah populasi bakteri yang tumbuh pada medium.

Tembaga adalah mikronutrien yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan bakteri namun kadar tembaga yang tinggi dapat memberikan efek merusak komunitas mikrobia sehingga hanya sedikit bakteri yang dapat tumbuh (Hartanto *et al.*, 2013). Toksisitas tembaga dapat terjadi melalui pengikatan atau pemblokiran gugus fungsi molekul biologis oleh tembaga yang mengakibatkan tidak aktifnya fungsi enzim, serta menimbulkan stres oksidatif. Penghambatan pertumbuhan terjadi sebagai akibat dari perubahan spesifisitas enzim dan struktur konformasi protein yang diperlukan dalam proses metabolisme (Sekarwati *et al.*, 2015).

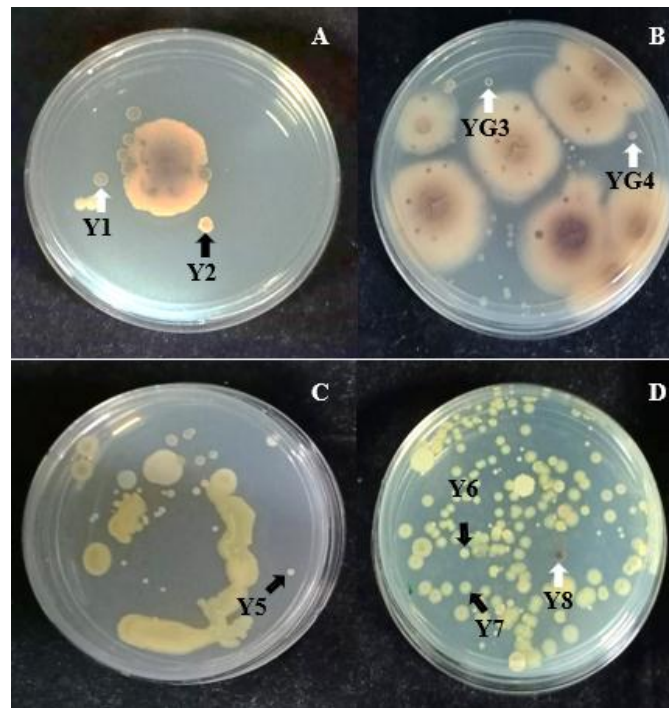
Isolasi bakteri dari limbah industri penyamakan kulit Yogyakarta menghasilkan 12 macam koloni dengan karakter yang berbeda-beda ditinjau dari bentuk, warna, penampakan optik, dan tepi koloni. Berdasarkan proses pemurnian isolat bakteri pada medium 3 mM  $\text{CuSO}_4$  diperoleh delapan isolat bakteri yang bertahan hidup dan diberi kode isolat Y1, Y2, Y3, Y4, Y5, Y6, Y7, dan Y8. Hasil isolasi juga menunjukkan adanya pertumbuhan koloni jamur yang nampak dari miselium pada Gambar 1B, namun jamur ini tidak ikut dalam seleksi karena tujuan utama penelitian ini adalah untuk mendapatkan isolat bakteri indigen yang resisten terhadap 3 mM  $\text{CuSO}_4$ .

Koloni merupakan kumpulan bakteri sejenis hasil reproduksi yang berkumpul pada satu medium kultur dari keturunan satu sel bakteri (Arhandi *et al.*, 2020). Medium kultur dalam pertumbuhan koloni bakteri berfungsi sebagai media pertumbuhan yang berisi vitamin dan kandungan nutrisi yang dibutuhkan oleh bakteri untuk tumbuh. Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa bakteri indigen yang diisolasi dari lingkungan tercemar memiliki

efektivitas untuk bioremediasi logam berat karena bakteri tersebut telah beradaptasi dengan lingkungan. Bakteri yang diisolasi dari lingkungan terkontaminasi logam berat tertentu memiliki mekanisme resistensi terhadap logam berat tersebut (Anand *et al.*, 2022).

Gambar 1 menunjukkan beberapa isolat yaitu YG 1, YG 3, YG 4, YG 8 yang pada bagian tengah koloninya berwarna hijau atau gelap mengindikasikan adanya penyerapan tembaga di dalam sel. Hasil penelitian sama terjadi pada *Acinetobacter* sp. IrC2 yang mengembangkan mekanisme resistensi dengan cara mengakumulasi tembaga di dalam periplasma dan menghasilkan warna koloni menjadi tampak kehijauan (Irawati *et al.*, 2020). Hasil penelitian pada *Pseudomonas syringae*, *Burkholderia* sp., *Alcaligenes* sp., dan *Methylobacterium* sp. juga menunjukkan hasil yang sama ketika bakteri tersebut ditumbuhkan pada medium yang mengandung  $\text{CuSO}_4$  (Cha & Cooksey, 1991; Kunito *et al.*, 1997). Isolat bakteri lain yaitu Y6 dan Y7 tidak menunjukkan adanya warna hijau atau gelap di tengah koloni mengindikasikan bahwa isolat bakteri ini mengembangkan mekanisme resistensi yang lain mungkin dengan cara pengikatan tembaga secara pasif di luar sel.

Menurut Wuertz *et al.* (1997), kemampuan bakteri untuk bertahan hidup di lingkungan yang tercemar ditentukan oleh sifat intrinsik dan ekstrinsik yang meliputi sifat biokimia, fisiologis, struktural, dan genetik yang diamati dari perubahan morfologi sel dan modifikasi spesiasi logam berat. Bakteri yang memiliki sifat tahan terhadap logam berat dapat melakukan mekanisme resistensi lain antara lain dengan sekresi eksopolisakarida (EPS). Eksopolisakarida merupakan polisakarida yang dihasilkan dari sintesis bakteri asam laktat. Eksopolisakarida ini mengikat tembaga di luar sel sebagai bentuk mekanisme resistensi pasif untuk melindungi sel dari toksisitas tembaga (Naik *et al.*, 2012).



Gambar 1. Komunitas bakteri yang diisolasi dari limbah Penyamakan Kulit Yogyakarta pada medium yang mengandung 3 mM CuSO<sub>4</sub>. Panah putih menunjukkan koloni yang menyerap tembaga.

Tabel 1. Isolasi dan karakterisasi koloni isolat bakteri dari limbah pabrik penyamakan kulit Yogyakarta

Kode Isolat	Warna	Tepi	Bentuk	Optik	Gram	Indikasi Akumulasi Tembaga
Y1	Hijau	Rata	Bulat	Buram	Positif	√
Y2	Kuning	Bergelombang	Bulat	Transparan	Positif	-
Y3	Putih kehijauan	Rata	Bulat	Buram	Positif	√
Y4	Hijau	Rata	Bulat	Buram	Positif	√
Y5	Putih	Rata	Bulat	Buram	Positif	-
Y6	Kuning muda	Bergerigi	Bulat	Buram	Negatif	-
Y7	Kuning muda	Rata	Bulat	Buram	Negatif	-
Y8	Hijau tua	Rata	Bulat	Buram	Positif	√

Tabel 1 menunjukkan hasil karakterisasi morfologi dari masing-masing koloni dengan kode isolat Y1, Y2, Y3, Y4, Y5, Y6, Y7, dan Y8. Hasil karakterisi meliputi warna, sifat optik, bentuk, tepi, gram dan tekstur. Setiap isolat bakteri resisten tembaga memiliki morfologi yang berbeda-beda. Variasi warna isolat bakteri beragam dari isolat berwarna hijau dengan kode Y1, Y4, isolat berwarna kuning yaitu Y2, isolat berwarna putih kehijauan yakni isolat Y3, isolat dengan warna kuning muda yakni Y6, dan Y7, isolat berwarna putih dengan kode Y5, serta isolat dengan warna hijau tua yakni dengan kode

Y8. Semua penampakan optik koloni bakteri buram kecuali isolat Y2 memiliki penampakan optik transparan atau tembus pandang. Semua tepi koloni bakteri berbentuk rata kecuali isolat Y2 dan Y6 masing-masing memiliki tepi koloni bergelombang dan bergerigi. Menurut Prayitno (Prayitno *et al.*, 2001), karakteristik isolat bakteri yang paling sering ditemukan pada limbah pabrik penyamakan kulit yaitu isolat dengan warna putih keruh, bentuk tidak beraturan, isolat berwarna putih kekuningan bentuk tidak beraturan, dan isolat berwarna putih keruh berbentuk bulat.

Berdasarkan pewarnaan Gram dapat diketahui klasifikasi isolat bakteri tersebut termasuk ke dalam Gram positif atau Gram negatif. Pewarnaan Gram juga membantu memperjelas ukuran, bentuk, dan struktur dalam bakteri seperti dinding sel bakteri (Bulele et al., 2019). Bakteri Gram positif pada pewarnaan Gram akan mempertahankan warna utama ungu dari zat warna kristal violet-yodium meskipun telah dibilas dengan menggunakan alkohol (Nurhidayati et al., 2015), sedangkan bakteri Gram negatif berwarna merah karena zat warna kristal violet-yodium dapat dengan mudah larut saat pemberian larutan alkohol dan mendapatkan zat warna merah safranin. Kristal violet merupakan pewarna utama yang digunakan dalam pewarnaan gram yang akan meninggalkan warna ungu pada dinding sel. Dekolorisasi pewarna yang melekat pada petidoglikan bakteri dilakukan dengan membilas preparat bakteri dengan menggunakan alkohol (Rahmatullah et al., 2021). Pencucian menggunakan alkohol juga dapat mendehidrasasi peptidoglikan dan pori peptidoglikan mengkerut untuk mencegah terlepasnya kompleks kristal ungu-iodin, sehingga bakteri Gram positif akan tetap berwarna ungu atau biru (Rachma et al., 2009).

Hasil pengamatan mikroskopis setelah pewarnaan Gram menunjukkan bahwa semua sel berbentuk bulat. Sebagian besar isolat bakteri merupakan Gram positif (75%), dan sisanya sebesar 25% merupakan bakteri Gram negatif. Menurut (Solioz et al., 2010), bakteri Gram positif lebih tahan terhadap tembaga. Efek toksik utama tembaga disebabkan oleh pembentukan oksigen reaktif beracun dari reaksi tipe Fenton yang menyebabkan pembentukan radikal hidroksil (OH), hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), dan superoksida (O<sup>2-</sup>). Bakteri Gram-positif lebih toleran terhadap H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dibanding bakteri Gram negatif.

Ditemukannya isolat bakteri resisten tembaga dari sampel limbah industri penyamakan kulit ini merupakan penelitian yg bermanfaat sebagai penelitian awal diperolehnya isolat bakteri resisten tembaga indigen Indonesia untuk selanjutnya dikembangkan sebagai agen bioremediasi tembaga di dalam pengolahan limbah tembaga industri penyamakan kulit. Penelitian selanjutnya dapat dilakukan untuk mengetahui potensi setiap isolat bakteri dalam menyerap tembaga di dalam sel. Isolat bakteri

yang paling potensial dapat dijadikan sebagai agen biosorben penyerap tembaga di dalam bioreaktor pengolahan limbah penyamakan kulit. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa bakteri indigen Indonesia *Acinetobacter* sp. IrC2 dapat menurunkan konsentrasi tembaga sebesar 62% ketika bakteri ini diterapkan sebagai agen biosorben penyerap tembaga dalam bioreaktor limbah cair. Diharapkan isolat bakteri dari sampel limbah penyamakan kulit Yogyakarta dalam penelitian selanjutnya terbukti memiliki kemampuan yang tinggi dalam menyerap tembaga sehingga dapat digunakan sebagai agen bioremediasi dalam pengolahan limbah industri penyamakan kulit.

## Kesimpulan

Isolasi dan karakterisasi bakteri dari limbah pabrik penyamakan kulit Yogyakarta berhasil memperoleh delapan isolat yang resisten 3 mM CuSO<sub>4</sub> dengan kode Y1, Y2, Y3, Y4, Y5, Y6, Y7, dan Y8. Isolat Y1, Y2, Y3, Y4, Y5, Y8 merupakan bakteri Gram positif sedangkan isolat Y4 dan Y6 adalah Gram negatif. Isolat Y1, Y3, Y4, Y8 memiliki tengah koloni yang berwarna hitam atau kehijauan mengindikasikan resistensi bakteri terjadi dengan akumulasi tembaga di dalam sel. Penelitian ini diharapkan dapat dipergunakan sebagai langkah awal untuk semakin mengembangkan riset mengenai bioremediasi tembaga di industri penyamakan kulit Yogyakarta.

## Ucapan terima kasih

Ucapan terima kasih diberikan kepada Sintia Yulia Rahmawati, Iren Asima Situmorang, dan Gebriel Lumbantoran yang turut membantu pelaksanaan penelitian.

## Referensi

- Agustine L, Okfrianti Y, & Jum J. (2018). Identifikasi Total Bakteri Asam Laktat (BAL) pada Yoghurt dengan Variasi Sukrosa dan Susu Skim. *Jurnal Dunia Gizi* 1(2): 79. DOI: 10.33085/jdg.v1i2.2972
- Ahmad, M. (2012) Implications of Bacterial Resistance against Heavy Metals in Bioremediation: A Review. *Journal of Institute of Integrative Omics and Applied*

- Biotechnology, 3, 39-46.
- Anand PS, Jadhav P, Kamath KP, Kumar SR, Vijayalaxmi S, & Anil S. (2022). A case-control study on the association between periodontitis and coronavirus disease (COVID-19). *Journal of Periodontology* **93**(4): 584–590. DOI: 10.1002/JPER.21-0272
- Arhandi Putra Prima, Annisa Taufika Firdausi, & Dicky Pradana (2020). Aplikasi Penghitung Koloni Bakteri Berbasis Android. *Jurnal Informatika Polinema* **6**(1): 23–32. DOI: 10.33795/jip.v6i1.288
- Bulele T, Rares FES, & Porotu'o J. (2019). Identifikasi Bakteri dengan Pewarnaan Gram pada Penderita Infeksi Mata Luar di Rumah Sakit Mata Kota Manado. *Jurnal e-Biomedik* **7**(1): 30–36. DOI: 10.35790/ebm.7.1.2019.22820
- Cha JS, Cooksey DA. (1991). Copper resistance in *Pseudomonas syringae* mediated by periplasmic and outer membrane proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A*.
- Damayanti NWE, Abadi MF, & Bintari NWD. (2020). Perbedaan Jumlah Bakteriuri Pada Wanita Lanjut Usia Berdasarkan Kultur Mikrobiologi Menggunakan Teknik Cawan Tuang Dan Cawan Sebar. *Meditory* **8**(1): 1–4
- Firra R, W I, & Agung Rachmanto T. (2016). Peningkatan Efektifitas Aerasi Dengan Menggunakan Micro Bubble Generator (MBG). *Jurnal Ilmiah Teknik Lingkungan* **8**(2): 88–97
- Hartanto HSB, Hariyati R, & Soeprobowati TR. (2013). Pertumbuhan Populasi *Chlorella Vulgaris* Beijerinck Dengan Perlakuan Penambahan Logam Berat Tembaga ( Cu ) Pada Skala Laboratorium. *Jurnal Biologi* **2**(1): 19–27
- Irawati, W. & Tahya C.Y. (2020). ISOLASI DAN KARAKTERISASI ISOLAT BAKTERI RESISTEN TEMBAGA DARI SUNGAI CISADANE **19** No: 441–450
- Irawati, W. (2019). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Resistensi Tembaga Dari Pantai Timur Surabaya. *BIOLINK (Jurnal Biologi Lingkungan Industri Kesehatan)* **6**(2): 95–105. DOI: 10.31289/biolink.v6i2.2558
- Irawati W, Pinontoan R, & Yuwono T. (2020). Indigenous copper resistant bacteria isolated from activated sludge of water treatment plant in Surabaya, Indonesia. *Biodiversitas* **21**(11): 5077–5084. DOI: 10.13057/biodiv/d211112
- Irawati W, & Tahya CY. (2022). Isolasi bakteri resisten tembaga dari teluk jakarta. **19**(2): 61–67
- Kunito T, Nagaoka K, Tada N, Senoo K, Oyaizu H, Matsumoto S, & Saeki K. (1997). Characterization of cu-resistant bacterial communities in cu-contaminated soils. *Soil Science and Plant Nutrition* **43**(3): 709–717. DOI: 10.1080/00380768.1997.10414795
- Kurniawan A, & Sukandar D. (2017). BIOSORPTION OF Cr(VI) USING RICE STRAW WASTE. *PONTE International Scientific Researchs Journal* **73**(4). DOI: 10.21506/j.ponte.2017.4.16
- Melati I. (2020). Teknik Bioremediasi: Keuntungan, Keterbatasan dan Propek Riset. *Prosiding Seminar Nasional Biotik* (3): 272–286
- Naik M, Dubey SK, & Pandey A. (2012). *Pseudomonas aeruginosa* strain WI-1 from Mandovi estuary possesses metallothionein to alleviate lead toxicity and promotes plant growth. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **79**:129–33
- Nurhamiddin F, & Ibrahim MH. (2018). Studi Pencemaran Logam Berat Timbal (Pb) dan Tembaga (Cu) pada Sedimen Laut di Pelabuhan Bastiong Kota Ternate Provinsi Maluku Utara. *jurnal Dintek* **11**(1): 41–55
- Nurhidayati S, Faturrahman F, & Ghazali M. (2015). DETEKSI BAKTERI PATOGEN YANG BERASOSIASI DENGAN *Kappaphycus alvarezii* (Doty) BERGEJALA PENYAKIT ICE-ICE. *Jurnal Sains Teknologi & Lingkungan* **1**(2): 24–30. DOI: 10.29303/jstl.v1i2.53
- Oktafeni M. (2016). Studi Pencemaran Limbah Cair Dengan Parameter BOD5 dan pH di Pasar Ikan Tradisional dan Pasar Modern di Kota Semarang. *Jurnal Kesehatan Masyarakat (e-Journal)* **4**(2):166–175
- Pratama G, Kurniawan ID, & Ilhamdy AF. (2020). Pengendalian Pencemaran Limbah Domestik sebagai Upaya Rehabilitasi Pesisir di Desa Malangrapat, Kabupaten Bintan. *PRIMA: Journal of Community*

- Empowering and Services* **4(1)**: 45. DOI: 10.20961/prima.v4i1.41228
- Prayitno P, Widowati TP, Suryaningsih PE, & Susila RJ. (2001). Isolasi dan identifikasi mikroorganisme dalam lumpur aktif pengolahan limbah industri kulit. *Majalah Kulit, Karet, dan Plastik*, 33. DOI: 10.20543/mkpp.v17i1-2.255
- Priadie B. (2012). Teknik Bioremediasi Sebagai Alternatif Dalam Upaya Pengendalian Pencemaran Air. *Jurnal Ilmu Lingkungan* **10(1)**: 38. DOI: 10.14710/jil.10.1.38-48
- Putri DM, Budiharjo A, Kusdiyantini E. (2014). ISOLASI, KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT, DAN ANALISIS PROKSIMAT DARI PANGAN FERMENTASI RUSIP IKAN TERI (*Stolephorus* sp.). *Jurnal Biologi* **3(2)**: 11–19
- Rachma A, Sarjono PR, & Aminin ALN. (2009). Isolasi Bakteri Termofilik Sumber Air Panas Gedongsongo dengan Media Pengaya Minimal YT (Yeast Tripton) serta Identifikasi Genotipik dan Fenotipik. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi* **12(3)**: 66–71. DOI: 10.14710/jksa.12.3.66-71
- Rahmatullah W, Novianti E, & Sari ADL. (2021). Identifikasi Bakteri Udara Menggunakan Teknik Pewarnaan Gram. *Jurnal Ilmu Kesehatan Bhakti Setya Medika* **6(2)**: 84–92
- Said MI, & Likadja JC. (2012). Isolasi dan Identifikasi Bakteri yang Berpotensi Sebagai Penghasil Enzim Protease Pada Industri Penyamakan KULit PT. Adhi Satria Abadi (ASA), Yogyakarta. *Jurnal Ilmu Teknologi Pangan (JITP)* **2(2)**: 121–128
- Santosa RW. (2013). DAMPAK PENCEMARAN LINGKUNGAN LAUT OLEH PERUSAHAAN PERTAMBANGAN TERHADAP NELAYAN TRADISIONAL. **(2)**: 65–78
- Sekarwati N, Murachman B, & Sunarto (2015). Dampak Logam Berat Cu (Tembaga) dan Ag (Perak) pada Limbah Cair Industri Perak terhadap Kualitas Air Sumur dan Kesehatan Masyarakat serta Upaya Pengendaliannya di Kotagede Yogyakarta. *Jurnal Ekosains* **VII(1)**: 13
- Solioz M, Abicht HK, Mermod M, & Mancini S. (2010). Response of Gram-positive bacteria to copper stress. *Journal of Biological Inorganic Chemistry* **15(1)**: 3–14. DOI: 10.1007/s00775-009-0588-3
- Tanjung CF, Effendi I, & Elizal E. (2018). Growth of Heterotrophic Bacteria in Sea Water Polluted By Rinso Detergent. *Asian Journal of Aquatic Sciences* **1(1)**: 58–65. DOI: 10.31258/ajoas.1.1.58-65
- Wuertz S, & Mergeay M. (1997). The impact of heavy metals on soil microbial communities and their activities. In: van Elsas JD, Trevors JT, Wellington EMH (eds) *Modern Soil Microbiology*. Marcel Dekker, New York.