

RESISTENSI LOGAM BERAT STRAIN BAKTERI HETEROTROFIK ASAL LIMBAH CAIR DOMESTIK SEBAGAI FORMULA PENGURAI LIMBAH

Lud Waluyo

Jurusan Pendidikan Biologi FKIP Universitas Muhammadiyah Malang, Malang

E-mail : ludwaluyo63@gmail.com (*correspondence author*)

ABSTRAK

Kontaminasi logam berat di perairan, termasuk limbah cair domestik dapat mempengaruhi kualitas air maupun komponen biologis termasuk bakteri. Salah satu pemecahan masalah secara mikrobiologis dengan menggunakan mikroba indigen. Metode untuk mencapai target dengan menguji resistensi logam berat menggunakan metode streak plate agar slant yang mengandung HgCl_2 , dan CuCl_2 . Konsentrasi HgCl_2 yang diujikan adalah 1, 2, 3, 4, 5 mg/L dan seterusnya sampai didapatkan resistensi merkuri tertinggi. Konsentrasi HgCl_2 , dan CuCl_2 yang diujikan adalah 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, dan 50 mg/L. Perlakuan dilakukan ulangan sebanyak 3 kali. Kultur bakteri heterotrofik kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil penelitian menunjukkan *Bacillus cereus* strain BQAR-01d, *Bacillus thuringiensis* strain MSS-2, *Bacillus cereus* strain JDA-1, *Bacillus* sp. B31 (2008), *Aneurinibacillus* sp. YR247, *Bacillus* sp. Gut03, *Enterococcus* sp. 79w3, *Bacillus* sp. Z-3, Uncultured *Bacillus* sp. clone C6A08 semua resisten terhadap CuCl_2 . *Bacillus cereus* strain BQAR-01d, *Enterococcus* sp. 79w3, *Bacillus* sp. Z-3, resisten terhadap HgCl_2 sampai dengan konsentrasi 50 mg/L. Ada 4 strain bakteri heterotrofik yang berpotensi untuk dikembangkan menjadi pengurai limbah cair domestik yang mengandung logam berat.

Kata kunci: resistensi, bakteri heterotrofik, limbah cair, logam berat.

PENDAHULUAN

Salah satu pencemar kimiawi yang sangat membahayakan bagi kesehatan manusia adalah logam berat. Pencemaran logam berat yang paling terkenal yakni pencemaran merkuri yang pernah terjadi di teluk Minamata Jepang tahun 1950-1963. Dampak yang ditimbulkan adalah penyakit neurotoksik yang dikenal dengan penyakit Minamata. Neurotoksik adalah gangguan neurologis dan menyebabkan bayi cacat lahir. Kejadian tersebut disebabkan keracunan metal merkuri (Me-Hg) karena mengkonsumsi ikan yang mengalami biomagnifikasi merkuri. Sebagian besar merkuri akan disekresikan melalui urine dan feces, tetapi dalam bentuk Hg^{2+} akan mengakumulasi di otak dan di ginjal (Boening, 2000). Dengan demikian pencemaran merkuri di perairan sangat berbahaya dan perlu mendapat perhatian semua pihak.

Logam berat ternyata bukan hanya dari limbah industri saja, akan tetapi juga didapatkan pada limbah cair domestik. Kandungan bahan kimia utama dalam limbah cair adalah bahan organik dan bahan anorganik. Limbah dengan pengotoran sedang, ada $\pm 75\%$ dari benda-benda tercampur dan 40% dari zat padat yang dapat disaring adalah berupa bahan organik

alami. Zat organik merupakan kombinasi dari unsur C (karbon), H (hidrogen), O (oksigen), dan N (nitrogen). Unsur lain yang penting adalah S (belerang), P (fosfor), dan Fe (besi). Pada umumnya kandungan bahan organik dalam air limbah berisi 40-60% protein, 25-30% karbohidrat, dan lemak atau minyak. Jumlah kandungan bahan anorganik yang dihasilkan tergantung dari sumber air limbah itu berasal. Biasanya kandungan bahan anorganik dari limbah mengandung klorida, sulfur, nitrogen, metana, zat beracun (misalnya tembaga, timbal, perak, krom, arsen, boron dan sianida) (Supriyanto, dkk., 2007; Gerardi, 2006; Beck, 2001; Bhatia, 2008; Sigh dan Ward, 2004).

Proses skrining terhadap isolat mikroba harus disesuaikan dengan lingkungan mikroba tersebut. Karakteristik potensi isolat dari limbah cair domestik harus dipilih yang memiliki kemampuan lengkap, yakni toleran deterjen, toleran LAS (*Linear Alkylbenzene Sulfonate*), kemampuan mendegradasi senyawa organik, antagonistik terhadap patogen, dan tidak saling antagonis satu spesies dengan spesies lainnya (Atlas dan Philp, 2005; Waluyo, 2015).

Salah satu upaya penanganan limbah cair domestik secara mikrobiologi yakni

dengan memanfaatkan isolat mikroba asli (indigen) yang berpotensi menguraikan limbah tersebut. Secara alamiah mikroba yang berpotensi sebagai pengurai didapatkan dengan mengisolasi dari limbah itu sendiri, kemudian dikultur secara *in vitro* di laboratorium. Inokulan yang digunakan berasal dari mikroba asli baik dalam bentuk senyawa tunggal atau kelompok berbagai spesies (konsorsium). Mikroba yang paling berpotensi dalam penguraian limbah dan mematikan patogen diperbanyak di laboratorium untuk digunakan sebagai starter penguraian limbah (Atlas dan Philp, 2005; Handayanto dan Hairiah, 2007).

Strain mikroba yang berpotensi dalam penguraian limbah telah diidentifikasi secara molekuler (Waluyo, 2015), dapat diintroduksi ke dalam limbah cair domestik akan mempengaruhi mikroba lainnya. Mikroba unggul harus toleran terhadap berbagai jenis dan konsentrasi deterjen. Mikroba yang ada dalam komunitas limbah sendiri berinteraksi satu sama lainnya. Masalah penelitian adalah (1) Bagaimana resistensi strain bakteri heterotrofik toleran deterjen asal limbah cair domestik terhadap berbagai logam berat?, (2) Apakah dapat ditemukan strain BRLB (bakteri resisten logam berat) di antara strain bakteri heterotrofik toleran deterjen asal limbah cair domestik?

METODE PENELITIAN

Secara keseluruhan penelitian dibagi menjadi dua, yakni menemukan karakter resisten terhadap logam berat dan kemungkinan strain tersebut dapat meremediasi logam berat pada limbah cair domestik. Strain bakteri heterotrofik ada 9 berdasarkan hasil reaksi PCR dipurifikasi dengan metode presipitasi etanol/EDTA. Sebanyak 20 mikroL suspense hasil PCR dimasukkan ke dalam tabung mikrosentrifus kemudian ditambah 5 mikroL EDTA 125 mM dan 60 mikroL etanol absolut, diinkubasi pada suhu ruang 15 menit dan disentrifus dengan kecepatan 4.000-5.000 rpm (30 menit). Supernatant dibuang, pellet di dalam tabung ditambah 60 mikroL etanol 70%, disentrifus 4.000 rpm pada suhu 4°C (15 menit). Supernatant dibuang, pellet sekuen 16S rRNA dikeringkan dengan speed vac pada suhu 4°C (10-15 menit), ditambah 20 mikroL Hi_{di} formamide, divortex

sebentar. Selanjutnya suspense dipanaskan pada suhu 95°C (2-5 menit) segera dipindah ke suhu dingin, dipipet 13 mikroL dimasukkan ke dalam tube sampel, sampel siap *tray* dan di *running*.

Sequencing nukleotida DNA penyandi 16S rRNA. Amplikon DNA penyandi 16S rRNA murni dari masing-masing isolat toleran deterjen di-*sequencing* dengan menggunakan Bigdye V.3.1. proses *sequencing* 16S rRNA murni setiap isolat bakteri dijalankan sesuai prosedur *genetic Analyzer* ABI PRISM 310 menggunakan mesin sequencer. Hasil *sequencing* berupa file yang terdiri *electropherogram* dan *textfile* urutan nukleotida DNA (Abed, et al, 2007).

Rekonstruksi pohon filogenetik. Data urutan DNA penyandi 16S rRNA dari masing-masing isolat bakteri toleran deterjen di aligment dengan data dari strain acuan yang didownload dari gene-bank <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy>, kemudian dianalisis dengan PFE untuk menata data urutan nukleotida DNA penyandi 16S rRNA (Sembiring, 2004).

Uji resistensi logam berat menggunakan metode *streak plate agar slant* yang mengandung HgCl₂, CdCl₂, PbCl₂, dan CuCl₂. Konsentrasi HgCl₂ yang diujikan adalah 1, 2, 3, 4, 5 mg/L dan seterusnya sampai didapatkan resistensi merkuri tertinggi. Konsentrasi CdCl₂, PbCl₂, dan CuCl₂ yang diujikan adalah 5, 10, 15, 20, dan 25 mg/L. Konsentrasi ditinggikan sampai strain bakteri tidak tumbuh. Konsentrasi selanjutnya yang dipakai yakni 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, dan 70 mg/L. Rancangan penelitian dengan RAL Faktorial dengan perlakuan dilakukan ulangan sebanyak 3 kali. Kultur bakteri heterotrofik kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Analisis data dengan menggunakan Anava Dua Faktot dilanjutkan dengan Uji lanjut Duncan dengan taraf signifikansi 5%.

Strain bakteri heterotrofik yang tumbuh adalah yang resisten terhadap logam berat Hg dan Cu. Strain bakteri yang dipilih adalah yang resisten terhadap logam berat Hg, dan Cu. Strain bakteri heterotrofik tersebut adalah *Bacillus cereus* strain BQAR-01d, *Bacillus thuringiensis* strain MSS-2, *Bacillus cereus* strain JDA-1, *Bacillus sp.* B31 (2008), *Aneurinibacillus*

sp. YR247, *Bacillus* sp. Gut03, *Enterococcus* sp. 79w3, *Bacillus* sp. Z-3, *Uncultured Bacillus* sp. clone C6A08. Akan ditemukan manakah strain bakteri yang paling tahan terhadap logam berat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Telah diidentifikasi secara molekuler sebanyak 9 strain bakteri heterotrofik. Strain ini yang akan diujikan resistensinya terhadap logam berat.

Tabel 5.1 Resistensi Strain Bakteri Heterotrofik Asal Limbah Cair Domestik terhadap HgCl₂ dan CuCl₂

No	Strain	Konsentrasi HgCl ₂ dan Cu Cl ₂ (mg/L) di media NA- HgCl ₂ & Cu Cl ₂								
		1	2	3	4	5	10	15	20	25
1	<i>Bacillus cereus</i> strain BQAR-01d 16 S rRNA	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	<i>Bacillus thuringiensis</i> strain MSS-2 16 S rRNA	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	<i>Bacillus cereus</i> strain JDA-1 16 S rRNA	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	<i>Bacillus</i> sp. B31(2008) 16S rRNA	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	<i>Aneurinibacillus</i> sp. YR247 16 S rRNA	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	<i>Bacillus</i> sp. Gut03 16 S rRNA	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	<i>Enterococcus</i> sp. 79w3 16 S rRNA	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	<i>Bacillus</i> sp. Z-3 16 S rRNA	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	<i>Uncultured Bacillus</i> sp. clone C6A08 16 S rRNA	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Keterangan:

+ : tumbuh pada inkubasi suhu 37°C 24 jam

Tabel 5.2 Resistensi Strain Bakteri Heterotrofik Asal Limbah Cair Domestik terhadap HgCl₂

No	Strain	Konsentrasi HgCl ₂ (mg/L) di media NA- HgCl ₂								
		30	35	40	45	50	55	60	65	70
1	<i>Bacillus cereus</i> strain BQAR-01d 16 S rRNA	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	<i>Bacillus thuringiensis</i> strain MSS-2 16 S rRNA	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	<i>Bacillus cereus</i> strain JDA-1 16 S rRNA	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	<i>Bacillus</i> sp. B31(2008) 16S rRNA	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	<i>Aneurinibacillus</i> sp. YR247 16 S rRNA	+	+	+	+	+	-	-	-	-
6	<i>Bacillus</i> sp. Gut03 16 S rRNA	+	+	+	+	+	-	-	-	-
7	<i>Enterococcus</i> sp. 79w3 16 S rRNA	+	+	+	-	-	-	-	-	-
8	<i>Bacillus</i> sp. Z-3 16 S rRNA	+	+	+	+	+	-	-	-	-
9	<i>Uncultured Bacillus</i> sp. clone C6A08 16 S rRNA	+	+	+	+	+	-	-	-	-

Keterangan:

+ : tumbuh pada inkubasi suhu 37°C 24 jam

Tabel 5.3 Resistensi Strain Bakteri Heterotrofik Asal Limbah Cair Domestik terhadap CuCl₂

No	Strain	Konsentrasi CuCl ₂ (mg/L) di media NA- CuCl ₂									
		30	35	40	45	50	55	60	65	70	
1	<i>Bacillus cereus</i> strain BQAR-01d 16 S rRNA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
2	<i>Bacillus thuringiensis</i> strain MSS-2 16 S rRNA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
3	<i>Bacillus cereus</i> strain JDA-1 16 S rRNA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
4	<i>Bacillus sp.</i> B31(2008) 16S rRNA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
5	<i>Aneurinibacillus sp.</i> YR247 16 S rRNA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
6	<i>Bacillus sp.</i> Gut03 16 S rRNA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
7	<i>Enterococcus sp.</i> 79w3 16 S rRNA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
8	<i>Bacillus sp.</i> Z-3 16 S rRNA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
9	Uncultured <i>Bacillus sp.</i> clone C6A08 16 S rRNA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

Keterangan:

+ : tumbuh pada inkubasi suhu 37°C 24 jam

PEMBAHASAN

Hasil uji resistensi dengan logam berat dalam media nutrient agar yang mengandung HgCl₂ dan CuCl₂ pada 9 strain bakteri heterotrofik pada tahap 1 dengan konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5 mg/L didapatkan hasil semua strain dapat tumbuh dalam media yang mengandung logam berat tersebut. Kemudian uji dilanjutkan dengan konsentrasi yang lebih tinggi yakni 5, 10, 15, 20, dan 25 mg/L konsentrasi HgCl₂ dan CuCl₂ juga didapatkan hasil semua tumbuh dalam media NA- HgCl₂ dan NA- CuCl₂. Hasil ini menunjukkan bahwa ke-9 strain bakteri heterotrofik asal limbah cair domestik asal kota Malang resisten terhadap kedua logam berat.

Kontaminasi merkuri di perairan dapat mempengaruhi kualitas air maupun komponen biologis termasuk bakteri. Beberapa bakteri ada resisten terhadap merkuri, baik bakteri gram negative maupun Gram positif, anggota kelompok mesofil, halofil dan esktrmofil (Holt, et. al., 1994). Bakteri resisten merkuri salah satu contoh adaptasi fisiologis dan genetik terhadap lingkungan terkontaminasi merkuri 1-10 mg/L (De dan Ramaniah, 2007), bahkan ada yang resisten merkuri dengan konsentrasi 25 mg/L (Zeyauallah, et al, 2010).

Pencemaran air oleh limbah rumah tangga salah satunya yang berwujud cair merupakan sumber pencemaran air. Limbah cair dapat berupa air beserta bahan-bahan buangan lain yang tercampur (tersuspensi) maupun terlarut dalam air. Tutut, dkk, (2014) yang termasuk limbah cair rumah tangga seperti sabun, deterjen, minyak, pestisida, air seni, air bekas cucian, air bekas mandi, dan lain-lain. Limbah cair rumah tangga dapat dijumpai berbagai bahan organik (misal sisa sayur, ikan, nasi, minyak, air buangan manusia) yang terbawa air. Limbah cair ini apabila tidak dilakukan pengolahan maka berdampak pada pencemaran lingkungan (Waluyo, 2016).

Timbal (Pb) bisa masuk dalam lingkungan dan tubuh manusia dari berbagai macam sumber seperti bensin (petrol), bahan daur ulang, pembuangan baterai, mainan, cat, pipa, tanah, beberapa jenis kosmetik, bahan pangan dan obat tradisional serta berbagai sumber lainnya. Pencemaran logam Pb pada limbah yang dihasilkan rumah tangga merupakan pencemaran dari produk maupun bahan yang digunakan dalam rumah tangga yang terdapat logam Pb. Kosmetik merupakan salah satu produk kecantikan yang banyak digunakan dalam rumah tangga. dalam kosmetik terdapat logam berat

seperti timbal (Pb) yang digunakan sebagai penstabil dan pelebur tekstur. Logam timbal (Pb) pada kosmetik sering ditemukan pada lipstik, *eye shadow*, *eye liner*. Kadar timbal (Pb) tertinggi terdapat pada lipstik warna merah mudah (Osborn, et al, 1997).

Jenis bahan pangan lain yang mengandung kontaminan Pb cukup tinggi adalah sayuran-sayuran. Kandungan rata-rata sebesar 28,78 ppm, jauh diatas batas aman yang diizinkan Direktorat Jendral Obat dan Makanan, yaitu sebesar 2 ppm. Logam berat pada bahan pangan ternyata tidak secara alami, namun juga dapat merupakan hasil migrasi dari pahan pengemasnya. Pengemasan menggunakan koran bekas tentu tidak tepat karena memungkinkan terjadinya migrasi logam berat (terutama Pb) dari tinta pada koran ke makanan (Zulaika, dkk., 2012; De dan Rahmani, 2007; Waluyo, 2013).

Logam pada industri digunakan untuk membuat alat perlengkapan rumah tangga seperti: sendok, garpu, pisau dan berbagai alat rumah tangga lainnya. Timbal (Pb) juga digunakan sebagai zat penyusun patri atau solder dan sebagai formulasi penyambung pipa yang mengakibatkan air untuk rumah tangga mempunyai banyak kemungkinan kontak dengan Pb (Zulaika, dkk., 2012). Hal tersebut menyebabkan limbah yang dihasilkan oleh rumah tangga tercemar oleh logam.

Adanya kandungan logam berat yang melapisi pipa air memungkinkan terjadinya kontak antara air rumah tangga dengan logam berat. Nascimento, and Charton (2003) di Amerika Serikat ditemukan kadar timbal dalam air minum mencapai 50 µg/l yang disebabkan oleh pemakaian tendon dan pipa air minum yang berlapis timbal.

Kemampuan resistensi yang dimiliki bakteri terhadap logam, misalnya merkuri. Beberapa mekanisme resistensi bakteri tersebut adalah a) Reduksi Hg²⁺ menjadi Hg secara enzimatis atau volatilisasi. Mekanisme ini terjadi di dalam sitoplasma (Essa et al, 2002). Reaksi enzimatis melibatkan gen *merA* yang menyandi merkuri reduktase dan membutuhkan NADH₂ sebagai donor elektron. Selanjutnya volatile Hg dikeluarkan dari sel bakteri ke lingkungan (Brown et al, 2002), b). Pembentukan merkuri sulfide (Hg-S). Mekanisme pembentukan Hg-S dilakukan

strain anggota spesies *Clostridium cochlearium* secara anaerobic dan *Klebsiella aerogenes* NCTC418 secara aerobik (Osborn et al, 1997), c). Penurunan permeabilitas membrane terhadap merkuri Hg²⁺. Penurunan permeabilitas membrane disebabkan oleh ekspresi dari dua plasmid yang mengkode protein. Protein tersebut dapat mengurangi permeabilitas membrane sitoplasme terhadap merkuri (Osborn et al, 1997), dan d) Mekanisme bioadsorpsi eksopolisakarida (EPS) pada dinding luar sel bakteri. EPS pada dinding luar bakteri mempunyai dua bentuk, yakni CPS (*capsular polysaccharides*) suatu polimer di permukaan sel dengan ikatan kovalen. Bentuk kedua, lender polisakaridayakni polimer di permukaan sel berbentuk matriks yang mudah lepas (Bragadeeswaran et al, 2011).

Adanya mekanisme bioreduksi Hg²⁺ menjadi Hg secara enzimatis dan mekanisme bioadsorpsi pada dinding sel bakteri resisten merkuri menjadi alternative yang potensial untuk mengeksplorasi dan memberdayakan bakteri resisten merkuri sebagai kandidat agensia bioremediasi lingkungan yang tercemar merkuri. Oleh karena itu, strain bakteri heterotrofik toleran deterjen asal limbah cair domestik kota Malang disamping bersifat amilolitik, proteolitik, lipolitik, biopestisida terbukti resistensi terhadap logam berat.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan *Bacillus cereus* strain BQAR-01d, *Bacillus thuringiensis* strain MSS-2, *Bacillus cereus* strain JDA-1, *Bacillus sp.* B31 (2008), *Aneurinibacillus sp.* YR247, *Bacillus sp.* Gut03, *Enterococcus sp.* 79w3, *Bacillus sp.* Z-3, *Uncultured Bacillus sp.* clone C6A08 semua resisten terhadap CuCl₂. *Bacillus cereus* strain BQAR-01d, *Enterococcus sp.* 79w3, *Bacillus sp.* Z-3, resisten terhadap HgCl₂ sampai dengan konsentrasi 50 mg/L, kecuali *Enterococcus sp.* 79w3 dan resisten terhadap CuCl₂ sampai dengan konsentrasi 70 mg/L. Ada 4 strain bakteri heterotrofik unggul yang berpotensi untuk dikembangkan menjadi pengurai limbah cair domestik yang mengandung logam berat.

DAFTAR PUSTAKA

- Abed, R. M. M., Zeina, B., Al-Thukairb, A., & de Beera, D., (2007). *Phylogenetic diversity and activity of aerobic heterotrophic bacteria from hypersaline oil-polluted microbial mat. Sytematic and Applied Microbiology*. 30, 319-330.
- Atlas, R. M., & Philp, J., (2005). *Bioremediation: Applied Microbial Solutions for Realworld Environmental*. Michigan: ASM Press.
- Beck, B. (2001). *Biodegradation and Persistence: Handbook of Environmental Chemistry* (Vol. 2), Park K, Springer-Verleg Berlin Heidelberg.
- Bhatia, C., (2008). *Handbook of Environmental Microbiology* (Vol. 3). New Delhi: Atlantic.
- Boening, D. W., (2000). *Ecological effect, transport and fate of mercury: A General Review*, Chemosphere, 40, 1335-1351.
- Bragadeewaran, S., Jeevapriya, R., Prabhu, K., Sophia R.S., Priyadharsini, S. & Balasubramanian, T. (2011). Exopolysaccharide production by *Bacillus cereus* GU812900, a fouling marine bacterium. *African Journal of Microbiology Research*. 5(24), 4124-4132
- Brown, N., Shih, Y., Leang, C., Glendinning, K., Hobman, J., & Wilson J., (2002). *Mercury Transport and Resistance*. International Biometals Symposium, Biometals, 715-718.
- De, J. & Rahmani, N. (2007). *Characterization of marine bacteria highly resistant to mercury exhibiting multiple resistances to toxic chemicals*. *Ecological Indicators* 7, 511-520.
- Essa, A. M., Macaskie, L. E., & Brown, N.L., (2002). *Mechanisms of mercury bioremediation*. *Biochemichal Society Transactions*. 30, 4-10.
- Gerardi, M. H., (2006). *Wastewater Bacteria*, John Wiley & Sons, Wiley Interscience.
- Handayanto, E. & Hairiah, K., (2007). *Biologi Tanah: Landasan Pengelolaan Tanah Sehat*, Yogyakarta: Pustaka Adipura.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A, Staley, J.T., & William, S.T., (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, Philadelphia: William & Wilkins.
- Nascimento, A. M. A & Charton Sousa, E. (2003). *Operon mer: Bacterial Resistance Mercury and Potential for Remediation of Contaminated Enviroments*. *Journal Geneticsand Molecolar Research* 2(1), 92-101.
- Osborn, A. M., Bruce, K. D., Strike, P. & Ritchie, D.A. (1997). *Distribution, diversity, and evolution of the bacterial mercury resistance (mer) operon*. *FEMS Microbiology Review*. 19, 239-262.
- Sembiring, L. (2004). *Sistematika Mikrobia sebagai Sarana Penyingkap Keanekaragaman Mikrobia dalam Upaya Pelestarian dan Pemanfaatan Sumber Daya Hyati Mikrobia*, Seminar Nasional Biologi, ITS, Surabaya.
- Sigh, A. & Ward, O. P., (2004). *Biodegradation and Bioremediation*, Springer.
- Supriyanto, C., Samin, & Zainal, K., (2007). *Analisis Cemar Logam Berat Pb, Cu, dan Cd pada Ikan Air Tawar dengan Metode Spektrometri Nyala Serapan Atom (SSA)*. Seminar Nasional III SDM Teknologi Nuklir, Yogyakarta
- Tutut, A., Maya, S., dan Enny, Z., (2012). *Resistensi Bakteri Bacillus terhadap Logam Berat*. Scientific Conference of Environmental Technology IX
- Waluyo, L (2015). *Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Heterotrofik Toleran Deterjen Asal Limbah Cair Domestik dengan Taksonomi Molekuler Genetik*, (Laporan PKID), Universitas Muhammadiyah Malang, Malang.
- Waluyo, (2013). *Mikrobiologi Lingkungan*, Malang: UMM Press.
- Waluyo, L., (2016). *Mikrobiologi Umum*, Malang: UMM Press.
- Zeyaulah, M. D., Islam B., & Ali, A., (2010). *Isolation, identification, and PCR amplification of merA gene from highly mercury polluted Yamuna*

*river. African Journal of
Biotechnology 9 (24), 3510-3514.*
Zulaika, E., Sembiring, L. and Soegianto, A.
(2012). *Characterization and
identification of mercury-resistant
bacteria from Kalimas river Surabaya-
Indonesia by numerical phonetic
taxonomy. Journal Basic Applied
Science Research 2 (7), 7263-7269.*