



PROSIDING

SEMINAR NASIONAL BIOTEKNOLOGI IV

Universitas Gadjah Mada

*"Bioteknologi,
Perubahan,
dan Masa Depan"*



Sabtu, 29 Oktober 2016
PS. Bioteknologi, Universitas Gadjah Mada



Program Studi S2/S3 Bioteknologi
Sekolah Pascasarjana UGM

PROSIDING

*Seminar Nasional Bioteknologi IV
Universitas Gadjah Mada*

BIOTEKNOLOGI, PERUBAHAN, DAN MASA DEPAN

Sekolah Pasca Sarjana UGM, 29 Oktober 2016

KEYNOTE SPEAKERS

Prof. Bernhard Grimm
(Humboldt University Berlin, Germany)

Prof. Enoch Y. Park
(Shizuoka University, Japan)

Prof. Koji Kageyama
(Gifu University, Japan)

REVIEWERS

Prof. drh. Widya Asmara, SU, Ph.D

Prof. Dr. Ir. Siti Subandiyah, M.Agr.Sc.

Ir. Donny Widiyanto, Ph.D

Dr. Rarastoeti Pratiwi, M.Sc

Dr. Yekti Asih Purwestri, M.Si

Dr. M. Saifur Rohman, M. Eng.

Dr. Tri Rini Nuringtyas, M. Sc.

Dr. Endang Semiarti, M.S., M.Sc.

Dr. Woro Anindito Sri Tunjung, M.Sc.

Dr. Ir. Murwantoko, M.Si.

Dr. rer. nat. Andhika Puspito Nugroho, S.Si., M.Si.

Dr. Zuliyati Rohmah, M.Si.

Sekolah Pascasarjana Universitas Gadjah Mada
Jl. Teknika Utara, Pogung, Yogyakarta, 55281,
Telp : 0274-564239, 544975, 555881, E-mail : sps@ugm.ac.id
<http://pasca.ugm.ac.id>

**PROSIDING
SEMINAR NASIONAL BIOTEKNOLOGI IV
UNIVERSITAS GADJAH MADA**

Tema

Bioteknologi, Perubahan, dan Masa Depan

Sekolah Pasca Sarjana UGM, 29 Oktober 2016

- Keynote Speaker : - Prof. Bernhard Grimm (Humboldt University Berlin, Germany)
- Prof. Enoch Y. Park (Shizuoka University, Japan)
- Prof. Koji Kageyama (Gifu University, Japan)
- Reviewer : - Prof. drh. Widya Asmara, SU, Ph.D
- Prof. Dr. Ir. Siti Subandiyah, M.Agr.Sc.
- Ir. Donny Widiyanto, Ph.D
- Dr. Rarastoeti Pratiwi, M.Sc
- Dr. Yekti Asih Purwestri, M.Si
- Dr. M. Saifur Rohman, M. Eng.
- Dr. Tri Rini Nuringtyas, M. Sc.
- Dr. Endang Semiarti, M.S., M.Sc.
- Dr. Woro Anindito Sri Tunjung, M.Sc.
- Dr. Ir. Murwantoko, M.Si.
- Dr. rer. nat. Andhika Puspito Nugroho, S.Si., M.Si.
- Dr. Zuliyati Rohmah, M.Si.
- Editor : - Chahyaning Ardhiani
- Puput Putri Nurbasari
- Laurensia Maria Yulian
- Demas Bayu Handika
- Firasti Agung N. S.
- Cover Design dan Lay Out : Lintang Pustaka Utama
- Cetakan I : Agustus 2017
- Publisher : Sekolah Pascasarjana UGM
- Alamat : Jl. Teknika Utara, Pogung, Sleman, Yogyakarta 55281
- Email : sps@ugm.ac.id; biotech@ugm.ac.id
- Website : <http://pasca.ugm.ac.id>; [//biotech.ugm.ac.id](http://biotech.ugm.ac.id)

ISBN: 978-602-8683-20-3

All right reserved

No part of this publication may be reproduced without written permission of the publisher

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa sehingga penyusunan prosiding seminar dapat terselesaikan. Prosiding ini merupakan media komunikasi hasil penelitian yang telah disajikan dalam Seminar Nasional Bioteknologi IV Universitas Gadjah Mada tahun 2016. Semoga selanjutnya terwujud komunikasi yang bersinergi antara peneliti untuk memberikan sumbangsih dalam mewujudkan masa depan Indonesia yang lebih baik.

Kami mengucapkan terima kasih kepada para peneliti yang menyatakan kesediaannya agar artikel hasil penelitiannya dipublikasikan dalam prosiding seminar ini. Ucapan terima kasih juga kami sampaikan kepada para reviewer atas waktu, tenaga dan pikiran yang dicurahkan untuk menelaah artikel dari peneliti, serta tim penyusun atas jerih payahnya sehingga prosiding ini terbit.

Apabila ada kekeliruan dalam prosiding ini, kami mohon maaf yang sebesar-besarnya. Semoga informasi yang termuat dalam prosiding ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu bioteknologi di Indonesia.

Ketua Panitia

Dr. Ir. Chusnul Hanim, M.Si.

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	iv
KEPANITIAAN.....	ix
SUSUNAN ACARA.....	x
Uji Organoleptik dan Kesukaan Yoghurt Susu Biji Nangka (<i>Artocarpus heterophyllus</i>) dengan Perisa Alami Buah Nangka <i>Annasonia MR dan YM Lauda Feroniasanti</i>	1
Ketahanan Tanaman Cabai (<i>Capsicum annuum</i> L.) Generasi Tetua (F ₁) dan Generasi Kelima (F ₅) terhadap Infeksi <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Aprilia Dita Pawestri, Rina Sri Kasiamdari, Budi Setiadi Daryono</i>	12
Viabilitas Bakteri Asam Laktat dan Khamir pada Kefir dengan Metode <i>Spray Drying</i> <i>Ayu Septi Anggraeni, Hendra Herdian, M. Faiz Karimy, Lusty Istiqomah, A. Angger Sakti, Harun Ar Rasyid</i>	28
Insidensi dan Prevalensi <i>White Spot Syndrome Virus</i> (WSSV) pada Plankton dari Sentra Budidaya Udang Vaname Supra Intensif di Kabupaten Barru <i>Bunga Rante Tampangallo dan Herlinah</i>	41
Analisis Filogenetik pada Sapi Peranakan Angus <i>Dwi Ahmad Priyadi, Yudi Adinata, Tety Hartatik</i>	57
Multiplikasi Tunas <i>In Vitro</i> Jeruk Batang Bawah <i>Japansche Citroen</i> (JC) dengan Peningkatan Konsentrasi Vitamin dan Penambahan Sitokinin <i>Dyah Retno Wulandari, Aida Wulansari, Deritha Ellfy Rantau, Tri Muji Ermayanti</i>	68

Efek Fermentasi oleh <i>Lactobacillus plantarum</i> terhadap Kandungan Asam Amino Ampas Tahu <i>Eka Fitasari dan Budi Santosa</i>	86
Konstruksi Gen cyp71AV1 pada Vektor pCAMBIA 1303 dan Transformasi ke dalam <i>Agrobacterium tumefaciens</i> <i>Elfahmi, Lely Sulfiani Saula, Tati Kristianti, Sony Suhandono</i>	94
Seleksi Benih dengan Seed Gravity Table untuk Meningkatkan Perkecambahan dan Pertumbuhan Bibit Pilang (<i>Acacia leucophloea</i>) <i>Eliya Suita</i>	108
Pengaruh Waktu Maturasi Oosit Terhadap Keberhasilan Produksi Embrio Sapi Bali Secara <i>In Vitro</i> <i>Herry Sonjaya, Hasbi, Lellah Rahim, Sri Gustina, Muhammad Amin</i>	124
Pengaruh Volume Inokulum <i>Zymomonasmobilis</i> pada Produksi Bioetanol dari Kulit Pisang Kepok Kuning (<i>Musa paradisiaca</i> L.) dengan Metode Fermentasi Substrat Padat <i>Hisreidi Funome dan Retno Herrani</i>	140
Evaluasi Performa Pertumbuhan pada Keturunan Ikan Lele Mutiara Transgenik F1 <i>Ibnu Dwi Buwono</i>	150
Kadar Fe dan Zn Beras Padi Lokal Rawa Pasang Surut <i>Izhar Khairullah</i>	173
Aktivitas Penghambatan Ekstrak Etanol Rumput Laut <i>Caulerpa</i> sp. Terhadap Jamur <i>Aspergillus flavus</i> pada Biji Jagung <i>Julyasih, KSM. dan Purnawati, A.</i>	186

Bacteriological Quality of Milk Cow in Jember Based on the Content of <i>Coliform</i> Bacteria (<i>Escherichia coli</i>) <i>Kennis Rozana, Dwi Wahyuni, Mochammad Iqbal</i>	194
Teknik Sterilisasi dan Regenerasi <i>In Vitro</i> Eksplan Tunas Rumput Gajah Mini Odot (<i>Pennisetum purpureum</i> cv. Mott) <i>Marhamah Nadir, Rinaldi Sjahrir, Budiman</i>	208
Isolasi dan Seleksi Bakteri Resisten Tembaga dari Tailing PT Freeport Indonesia (PTFI) <i>Maria Massora, Erni Martani, Eko Sugiharto, Roberth Sarwom, Tumpal Sinaga</i>	217
Identifikasi dan Teknik Pengendalian Hama dan Penyakit Benih Kayu Bawang (<i>Azadirachta excelsa</i> (Jack) Jacobs) pada Benih Pasca Panen dan Perkecambahan <i>Naning Yuniarti, Tati Suharti, Nurhasybi</i>	232
Efek Protektif Jus Campuran Buah Tropis terhadap Kualitas Sperma Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) yang dipapar Asap Rokok <i>Novi Febrianti, Irfan Yuniyanto, Haris Setiawan, Ulfiana Zahrotun Naafi'ah</i>	244
Penggunaan <i>Plant Preservative Mixture</i> (PPM) untuk Sterilisasi Eksplan dan Media pada Kultur <i>In Vitro</i> <i>Novi Syatria dan Jhon Firison</i>	257
Karakter Reduksi Sulfat dan Pengendapan Logam Mn Konsorsium Bakteri Pereduksi Sulfat dari Kotoran Kambing <i>Nur'Aini Purnamaningsih dan Endah Retnaningrum</i>	273
Pengaruh Lama Waktu Fermentasi Terhadap Total Asam Tertitrasi, pH dan Karakteristik Tempoyak Menggunakan Starter Basah <i>Lactobacillus casei</i> <i>Oktaviani P. Megama dan Puspita Ratna Susilawati</i>	282

<i>Eucalyptus pellita</i> germplasm conservation by <i>in-vitro</i> cold storage Reny Hayati Zul, Suharyanto, Irda Susanti, Gustavo Lopez ..	298
Transformasi Genetik pada Tanaman Tebu (<i>Saccharum officinarum</i>) dengan Perantara <i>Agrobacterium tumefaciens</i> Strain GV3101 yang Membawa Gen Pelapor GUS Rika Mustika dan Erly Marwani.....	308
Efektivitas Konsentrasi dan Lama Ko-Kultivasi <i>Agrobacterium tumefaciens</i> EHA105 (pEKB-WD) Pembawa Gen Defensin Wasabi Terhadap Pengkalusan Eksplan Daun pada Pengembangan Krisan Tahan Penyakit Secara <i>In Vitro</i> Rinaldi Sjahril, Feranita Haring, Muh. Riadi, Arjunayanti Amir, Trisnawaty, A.R.....	322
Preparation of a New DNA Calibrator for HER-2 Scoring Application and Its PCR Test Specificity Rismaya, Bugi Ratno Budiarto, Desriani.....	336
Radio - Sensitivity Callus Inpara 3 Varieties Based On The Growth And Regeneration Of Callus Rossa Yunita, Nurul Khumaida, Didy Sopandie, Ika Mariska	350
Pertumbuhan Tunas <i>in vitro</i> dan Pembentukan Umbi Mikro Kentang Merah (<i>Solanum tuberosum</i> L.) dengan Modifikasi Unsur Hara Makro dan Peningkatan Konsentrasi Gula Rudiyanto, Betalini Widhi Hapsari, Tri Muji Ermayanti	360
Phylogenetic Analysis of <i>Salmonella</i> spp Isolate based on <i>invA</i> Gene Sequence Stefanus Paulus dan Charis Amarantini.....	378
Proliferasi dan Regenerasi Kalus Hasil Transformasi Gen cryIAC dari Tiga Varietas Padi Indica Untuk Pembentukan Transgenik Padi Tahan Penggerek Batang Suci Rahayu, Sri Koerniati, Ika Mariska.....	389

Biodegradasi <i>Remazol Brilliant Blue</i> dalam Biosystem Vertikal <i>Suyasa, W.B., N.Wirajana, G.A.D.A. Suastuti</i>	406
Manganese (Mn) Stress toward Hyperaccumulators Plants Combination (HPC) Using <i>Jatropha curcas</i> and Lamtoro Gung (<i>L. leucocephala</i>) In Mychorrizal Addition on soybean (<i>Glycine max</i>) Seedling Stage <i>Tania Sylviana Darmawan, Sri Nurhatika, Anton Muhibuddin, Dyah Agustina, Achmad Arifiyanto</i>	420
Efektifitas Enzim Pemecah Polisakarida dalam Makro-Alga <i>Ulva lactuca</i> <i>Tri Poespowati, Ali Mahmudi, Rini Kartika Dewi</i>	436
Total Asam Laktat, Protein, Lemak, Karbohidrat, dan Serat <i>Whey Kefir</i> Susu Sapi Berdasarkan Konsentrasi Starter dan Waktu Fermentasi <i>Tuti Kurniati, Neneng Windayani, Milla Listiawati</i>	449
Gambaran Histologi Neuron Dopaminergik Substansia Nigra Pars Kompakta Tikus Putih Setelah Induksi Parakuat Diklorida Sebagai Hewan Model Penyakit Parkinson <i>Yosua Kristian Adi, Tri Wahyu Pangestiniingsih, Hery Wijayanto, Trini Susmiati, Ginus Partadiredja</i>	465
Karakterisasi Benih Tembesu (<i>Fagrea fragans</i>) dari Tiga Puluh Tiga Pohon Induk Asal Sumatera Selatan <i>Yulianti Bramasto, Kurniawati P.Putri, Agus Sofyan</i>	473
Impact Of Water Pollution In The Quality Of Catfish (<i>Pangasius sp.</i>) Spermatozoa <i>Wahyu Herlambang, Jamilatul Arofah, Ambarwati N. Cholifah, Fajriyatun Nufus, Yuli Winarsih, Khusnita Giarti, Wiji A. Suciati, M. Hilman F. A., Alfiah Hayati</i>	489

KEPANITIAAN

- Pengarah : Prof. dr. Iwan Dwiprahasto, M.Med. Sc., Ph.D
- Penanggungjawab : Prof. Ir. Suryo Purwono, MA. Sc., Ph.D
- Ketua Panitia : Dr. Chusnul Hanim, M. Si.
- Sekretaris : Dr. Rarastoeti Pratiwi, M.Sc
Cahyaning Ardhiani, S.P.
Ida Ayu Preharsini Kusuma, S.Si.
Bernadia Branitamahisi, S.Si.
Ikhsan Fauzi Wiryawan, S.Si
- Bendahara : Joko Budisantoso, S.Psi
- Seksi Ilmiah : Dr. Yekti Asih Purwestri, M.Si
Dr. Tri Rini Nuringtyas, M.Sc
Dr. M. Saifur Rahmam, M. Eng.
Puput Putri Nurbasari, S.P.
Ari Surya Sukarno, S.Pt.
Demas Bayu Handika, S.Pi.
Laurensia Maria Yulian D.D., S.Pt.
Firasti Agung N. S., S.Farm., Apt.
- Seksi Acara : Annisa Nazera Fauzia, S.Si.
Dini Astika Sari, S.Si.
Venny Kurnia Andika
M. Fahmy Avicenna
Joni Kristanto
Ifhan Dwinhoven
Paryono, S.E., M.P.A.
- Seksi Publikasi dan Dokumentasi:
Nasrulloh Harino A.G, S.Si
Masreza Parahadi
Santosa Pradana Putra S. N.
Stefani Santi Widhiastuti
Angga Dwi Prasetyo
- Seksi Konsumsi : Arsiyah
Tri Purwanti
Siti Rochani, S.E.
- Seksi Perlengkapan : Kaselan
Tukijo
Tony Ruwaedi, SIP
Sujono
Istarto

Susunan Acara

SEMINAR NASIONAL BIOTEKNOLOGI IV
Auditorium Sekolah Pascasarjana UGM
Yogyakarta, Indonesia
Sabtu, 29 Oktober 2016

Waktu	Acara
08.00 – 08.30	Registrasi
08.30 – 09.00	Pembukaan oleh MC
	Menyanyikan Lagu Indonesia Raya dan Hymne Gadjah Mada
	Laporan Ketua Pelaksana (Dr. Chusnul Hanim, M.Si.)
	Sambutan dan Pembukaan Semnas Bioteknologi IV 2016 (<i>Caretaker</i> Direktur Sekolah Pascasarjana - Prof. Dr. Iwan Dwiprahasto, M. Med. Sc., Ph.D)
	<i>Performance Art</i>
09.00 – 10.30	Sesi Pembicara Tamu I (Moderator: Dr. Yekti Asih Purwestri, M.Si) 1. Prof . Benhard Grimm (Humboldt University Berlin, Germany) <i>“Metabolism and application of chlorophyll, a beneficial green pigment”</i> 2. Prof. Enoch Y. Park (Shizuoka University, Japan) <i>“Potential application of virus-like particles on vaccine preparation”</i>
10.30-10.45	<ul style="list-style-type: none"> • Penyerahan kenang-kenangan kepada pembicara tamu • Sesi foto bersama
10.45-11.00	<i>Coffee break</i>

ISOLASI DAN SELEKSI BAKTERI RESISTEN TEMBAGA DARI TAILING PT FREEPORT INDONESIA (PTFI)

Maria Massora^{1*}, Erni Martani², Eko Sugiharto³, Roberth Sarwom⁴,
Tumpal Sinaga⁴

¹ Prodi Bioteknologi SPS UGM

² Fakultas Pertanian UGM

³ Fakultas MIPA UGM

⁴ Departement Environmental PTFI

E-Mail: *ria_massora@yahoo.co.id

Intisari

PT. Freeport Indonesia (PTFI) adalah perusahaan penambangan tembaga, emas dan perak yang beroperasi di Kabupaten Mimika, Papua. Dalam proses pengolahan bijih, diperoleh konsentrat yang mengandung 3 - 4% emas, perak dan tembaga, sedangkan sisanya sebesar 96 - 97% berupa tailing. Beberapa bakteri memiliki kemampuan mengakumulasi tembaga yang memungkinkan untuk digunakan sebagai agen bioremediasi ekosistem yang tercemar tembaga. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri resisten tembaga. Sampel tailing diambil dari beberapa titik aliran pembuangan tailing area PTFI dan isolasi bakteri pada medium *Salt Base Solution* (SBS) dengan penambahan CuSO_4 berbagai konsentrasi. Seleksi bakteri resisten tembaga. untuk mengetahui batas minimum konsentrasi (*Minimum Inhibitory Concentration/MIC*) CuSO_4 yang menghambat pertumbuhan setiap isolat. Hasil isolasi yang diperoleh sebanyak 89 isolat. Seleksi pertumbuhan pada konsentrasi 100 mg/L CuSO_4 diperoleh 43 isolat, 22 isolat pada konsentrasi 200 mg/L, 10 isolat pada konsentrasi CuSO_4 300 mg/L, 4 isolat pada konsentrasi 400 mg/L dan 2 isolat mampu tumbuh sampai pada konsentrasi 500 mg/L. Kemampuan isolat C38 dan C40 yang mampu tumbuh sampai konsentrasi 500 mg/L, diduga karena bakteri tersebut sudah memiliki kemampuan mengembangkan mekanisme resistensi untuk bertahan dalam lingkungan dengan konsentrasi tembaga yang tinggi. Hasil identifikasi dengan menggunakan API 20 NE dan API 50CHB, isolat C38 mirip dengan *Bacillus cereus*, isolat C40 mirip dengan *Bacillus subtilis*,

isolat C43 mirip dengan *Lysinibacillus fusiformis* dan isolat C53 mirip dengan *Pseudomonas aeruginosa*.

Kata Kunci: Bakteri resisten tembaga, MIC, Tailing, PTFI

Pendahuluan

PT. Freeport Indonesia (PTFI) adalah perusahaan penambangan tembaga, emas dan perak yang beroperasi di Kabupaten Mimika, Provinsi Papua sejak tahun 1972. Dalam proses pengolahan bijih ini diperoleh konsentrat yang mengandung 3 - 4% emas, perak dan tembaga, sedangkan sisanya sebesar 96 - 97% berupa tailing. Tailing adalah limbah dari proses pemisahan bijih mineral yang terkandung dari bijih tambang. Tailing hasil penambangan emas mengandung salah satu atau lebih bahan berbahaya beracun seperti Tembaga (Cu), Arsen (As), Kadmium (Cd), Timbal (Pb), Merkuri (Hg), Sianida (Cn) dan lainnya (PTFI, 2008).

Tembaga merupakan mikronutrien esensial dan kofaktor pada berbagai enzim yang mengkatalisis banyak reaksi biokimia penting bagi fisiologi sel normal pada semua organisme hidup (Leary dan Winge, 2007). Namun selain berperan sebagai unsur mikro yang penting, pada konsentrasi berlebihan, tembaga bersifat toksik sehingga dapat menghambat pertumbuhan dan menyebabkan kematian. Meskipun bersifat racun, mikroba tertentu memiliki resistensi tinggi terhadap tembaga, misalnya bakteri. Bakteri yang memiliki kemampuan mengembangkan mekanisme resistensi untuk bertahan dan berkembang biak dalam lingkungan yang terkontaminasi tembaga berpotensi sebagai agen bioremediasi. Penelitian menunjukkan bahwa bakteri dapat menggunakan bahan toksik sebagai substrat metaboliknya dan mengubahnya menjadi bahan yang kurang toksik (Narin, 2003).

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri resisten tembaga dari Tailing PTFI dan melakukan seleksi untuk mendapatkan bakteri yang memiliki kemampuan resistensi tinggi.



Metodologi

Bahan dan Alat

Medium untuk isolasi adalah medium *Salt Base Solution* (SBS) dengan penambahan CuSO_4 . Untuk uji kemampuan pertumbuhan isolat digunakan medium *Luria Bertani* (LB), *Nutrien Agar* (NA) dan *Nutrien Broth* (NB). Alat yang digunakan adalah *autoclave* (Huxley HL-340 Speedy), spektrofotometer UV-Vis (Lamda EZ 201-Perkin Elmer), Laminar Air Flow Cabinet (Dalton), *shaker* (Camag), *sentrifuge*, Timbangan Analitik (Mettler Toledo AB204-S), *Magnetic stirrer* (Cimarec), orbital inkubator (SI500), mesin sentrifugasi (Heraeus), Mikroskop Stereo (Nikon MZD), dan alat-alat gelas.

Pengambilan Sampel

Sampel tailing diambil dari beberapa titik pembuangan tailing, mulai dari lokasi pengolahan biji (MP 74) tempat awal pengolahan tambang dan tailing pertama kali dibuang, sampai pada Daerah Pengendapan Ajkwa (ModADA). Sampel dimasukkan ke dalam plastik sampel steril kemudian dibawa ke laboratorium untuk dianalisa lebih lanjut.

Isolasi dan Purifikasi Bakteri Resisten Tembaga

Bakteri resiten tembaga diisolasi dari sampel tailing PTFI, menggunakan metode Irawati *et al.* (2012), yang telah dimodifikasi. Sampel 10 g diinokulasi ke dalam 90 mL medium SBS cair yang diberi CuSO_4 dengan konsentrasi bervariasi yaitu 20, 40, 60, 80, dan 100 mg/L. Sampel diinkubasikan pada suhu 37°C selama 5 x 24 jam dengan penggojokkan 170 rpm. Setelah diinkubasi, kultur diinokulasikan dengan metode tuang ke dalam medium padat dengan konsentrasi CuSO_4 yang sama (20, 40, 60, 80, dan 100 mg/L), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C . Isolat bakteri yang tumbuh, diuji pertumbuhannya pada medium dengan konsentrasi CuSO_4 100, 200 dan 300 mg/L. Koloni bakteri yang tumbuh pada CuSO_4 300 mg/L disubkultur pada medium yang mengandung CuSO_4 hingga isolat murni. Isolat murni disimpan pada suhu 4°C dalam agar miring yang mengandung CuSO_4 dan juga dalam gliserol 20% yang mengandung CuSO_4 pada suhu -85°C .



Seleksi Bakteri Resisten Tembaga

Koloni bakteri yang tumbuh pada CuSO_4 300 mg/L diinokulasi ke dalam medium cair dan padat yang mengandung CuSO_4 dengan berbagai konsentrasi untuk mengetahui batas minimum konsentrasi CuSO_4 yang menghambat pertumbuhan setiap isolat (*Minimum Inhibitory Concentration/MIC*). Uji MIC dilakukan dengan penambahan konsentrasi 300, 400, dan 500 mg/L logam CuSO_4 . Pertumbuhan pada medium cair diukur dengan panjang gelombang 600 nm. Untuk kontrol, digunakan medium steril tanpa penambahan CuSO_4 dan inokulum. Untuk penentuan nilai MIC, biakan bakteri yang dipakai adalah biakan yang sebelumnya dibandingkan dengan larutan 0,5 McFarland Standar yang setara dengan 10^6 cfu/ml. Larutan McFarland Standar dibuat dengan komposisi 0,5 ml BaCl_2 dan 99,5 ml H_2SO_4 . Kekeruhan larutan diatur hingga bernilai 0,08 - 0,10 pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm.

Karakterisasi Isolat terpilih

Isolat bakteri yang mampu tumbuh pada konsentrasi CuSO_4 400-500 mg/L diwarnai dengan pewarnaan gram. Bakteri kemudian diidentifikasi dengan Analytical Profile Index (API) kit yaitu API 20 NE dan API 50 CHB (BioMerieux).

Hasil dan Pembahasan

Sampel Tailing

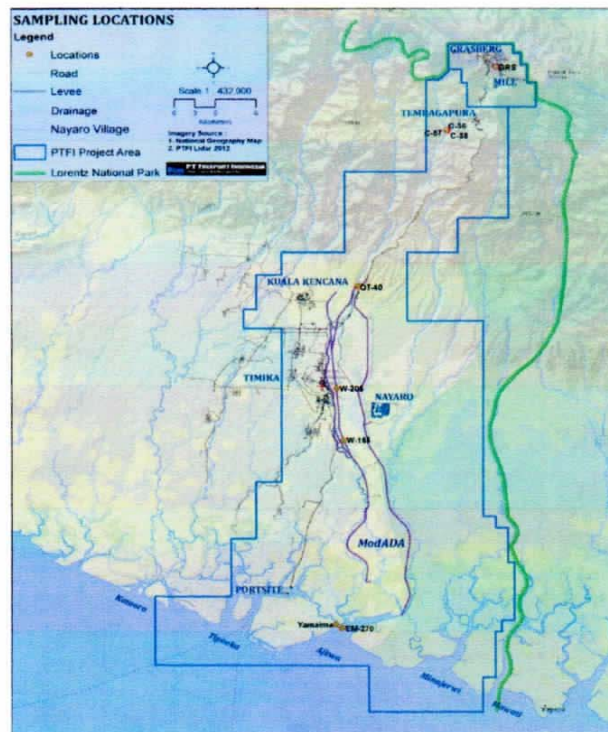
Titik pengambilan sampel ditentukan berdasarkan proses yang terjadi selama pengolahan biji mineral di Mile 74 mulai dari biji mineral dihancurkan, penambahan reagen pada batuan yang telah dihancurkan yang menghasilkan konsentrat dan tailing, dan proses pembuangan tailing mulai dari Mile 74 (Tembagapura) sampai di daerah pengendapan di dataran rendah (MOD ADA) (Gambar 1). Adapun titik titik pengambilan sampel adalah

Batuan asli tambang terbuka (Gresberg Mine/ Amole Stockpile) dan tambang bawah tanah (Underground Mine/MLA Stockpile).

1. Konsentrat dari Mile 74 sesudah penambahan reagent.
2. Tailing yang dihasilkan setelah penambahan reagent, sebelum masuk sungai.



3. Tailing yang sudah masuk ke sungai di Tembagapura (dataran tinggi) dimana sudah ada aktivitas pendulang
4. Batuan penutup yang dialirkan lewat sungai langsung dari Gresberg
5. Tailing dan batuan penutup yang sudah bercampur di sungai di Tembagapura.
6. Tailing pada dataran rendah yang ada aktivitas pendulang
7. Tailing yang diambil dari beberapa lokasi Reklamasi pada mulai dari daerah Tanggul (MOD ADA) sampai muara sungai.
8. Tailing yang diambil dari rizosfer tanaman mangrove pada daerah muara.



Gambar 1. Peta Lokasi Pengambilan Sampel (Tumpal Sinaga, PTFI, 2015)

Isolasi dan Purifikasi Bakteri Resisten Tembaga

Hasil isolasi bakteri resisten tembaga pada medium yang mengandung 100 - 300 mg/L CuSO_4 menunjukkan bahwa konsentrasi CuSO_4 dalam medium berpengaruh terhadap jumlah dan jenis bakteri yang tumbuh. Semakin tinggi konsentrasi CuSO_4

dalam medium, maka semakin sedikit jumlah dan jenis bakteri yang tumbuh (Tabel 1).

Bakteri yang tumbuh pada konsentrasi 100-300 mg/L ada 75 isolat yaitu 43 isolat pada 100 mg/L CuSO_4 , 22 isolat pada konsentrasi 200 mg/L, dan 10 isolat mampu tumbuh sampai pada konsentrasi CuSO_4 300 mg/L (Tabel 1). Keberadaan logam berat misalnya tembaga di lingkungan akan mempengaruhi populasi mikroba. Populasi mikroba akan menurun dan yang mampu bertahan hidup adalah mikroba yang resisten terhadap logam berat tersebut (Irawati *et al.*, 2012).

Tabel 1. Hasil isolasi bakteri resisten tembaga pada medium yang mengandung berbagai konsentrasi CuSO_4

Konsentrasi CuSO_4 (mg/L)	Kode Isolat Bakteri Yang Tumbuh	Jenis Bakteri
100	Isolat C1, C2, C5, C6, C7, C8, C9, C10, C11, C12, C13, C17, C18, C19, C23, C24, C25, C26, C27, C28, C29, C30, C31, C32, C34, C39, C46, C47, C48, C49, C50, C51, C52, C54, C55, C60, C63, C64, C65, C68, C69, C70, C71.	43 Isolat
200	Isolat C3, C4, C14, C15, C16, C20, C21, C22, C35, C36, C37, C42, C44, C72, C74, C75, C76, C80, C81, C84, C85, C89	22 Isolat
300	Isolat C38, C40, C41, C43, C45, C53, C61, C62, C66, C67	10 Isolat

Sel mikroba yang pada habitatnya selalu terpapar tembaga mengembangkan sistem untuk mengendalikan homeostasis tembaga pada tingkat yang tidak membahayakan sel. Kemampuan mikroba untuk bertahan dan berkembang biak dalam habitat yang terkontaminasi logam berat tergantung kepada kemampuan mikroba melakukan adaptasi fisiologis dan genetik (Saxena *et al.*, 2002).

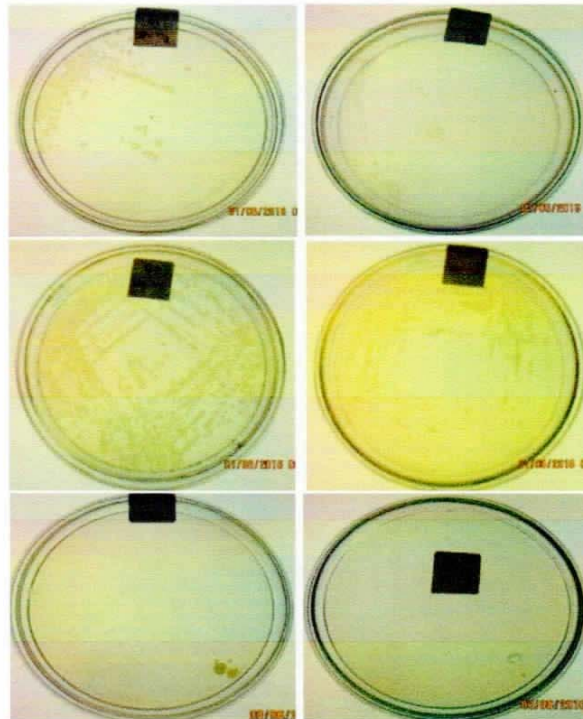
Seleksi Bakteri Resistan Tembaga

Minimum Inhibition Concentration (MIC) merupakan konsentrasi terendah tembaga yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hasilnya dapat diamati atau dilihat dari pertumbuhan koloni pada

medium agar atau kekeruhan jika ditumbuhkan pada medium cair. Berdasarkan nilai MIC, Isolat 38 dan Isolat 40 mampu tumbuh sampai konsentrasi 500 CuSO_4 (mg/L) (Tabel 2, Gambar 2, Gambar 3).

Tabel 2. Uji MIC CuSO_4 bakteri pada berbagai konsentrasi logam Cu pada Medium Cair

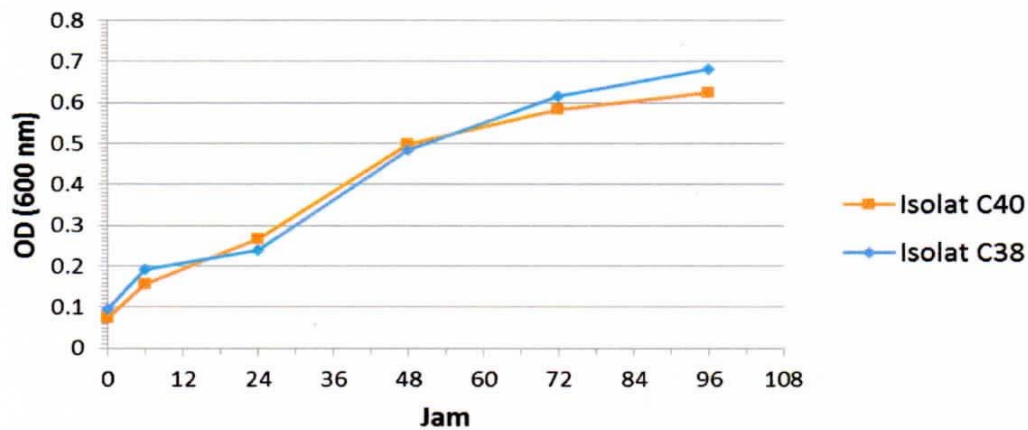
No	Isolat	MIC (mg/L)
1	38	500
2	40	500
3	41	300
4	43	400
5	45	300
6	53	400
7	61	300
8	62	300
9	66	300
10	67	300



Gambar 2. Uji MIC CuSO_4 bakteri pada berbagai konsentrasi logam Cu pada Medium Padat

Kandungan tembaga dalam tailing PT Freeport Indonesia cukup tinggi yang berkisar antara 560-2830 mg/kg (TEL, 2015), oleh karena itu, kemampuan isolat C38 dan C40 yang mampu tumbuh sampai konsentrasi 500 mg/L (Gambar 3), diduga karena bakteri tersebut sudah memiliki kemampuan mengembangkan mekanisme resistensi untuk bertahan dalam lingkungan dengan konsentrasi tembaga yang tinggi. Konsentrasi tembaga yang tinggi pada lingkungan menyebabkan terjadinya seleksi bakteri yang memiliki gen penyandi sifat resistensi tembaga.

Pertumbuhan Isolat C38 dan C40 dengan konsentrasi CuSO_4 500 mg/L



Gambar 3. Uji Kemampuan pertumbuhan isolat C38 dan C40 pada medium cair dengan konsentrasi CuSO_4 500 mg/L

Sistem pengendalian resistensi bakteri pada tembaga dapat disandikan oleh gen pada plasmid atau kromosom. Bakteri yang memiliki plasmid dan mampu mengikat tembaga dapat mengabsorpsi tembaga pada permukaan sel dan atau mengakumulasi di dalam struktur selnya. Bakteri yang mampu mengakumulasi tembaga dan berperan penting dalam oksidasi senyawa tembaga dapat digunakan sebagai alternatif agen bioremediasi lingkungan yang tercemar tembaga (Andarieazza *et al.*, 2010).



Mekanisme bakteri untuk beradaptasi pada kondisi tercemar logam bermacam-macam. Ada bakteri yang mempresipitasikan logam dalam bentuk garam-logam yang tidak larut, memproduksi agen pengkelat, memanfaatkan logam sebagai sumber energi, mengimobilisasi logam dalam dinding sel, mengubah permeabilitas membran sel bakteri terhadap logam, dan mereduksi logam menjadi bentuk yang tidak toksik. Mekanisme resistensi bakteri dengan cara mengakumulasi tembaga dapat dimanfaatkan untuk proses pengunduhan kembali dan remediasi lingkungan yang terkontaminasi logam berat khususnya tembaga. Pendekatan aplikasi mikrobial dalam bioremediasi lebih diutamakan pada penggunaan bakteri *indigenous* yang memiliki kemampuan mengikat tembaga sesuai dengan konsentrasi polutan di lingkungan tersebut (Widyati, 2007; Yong *et al.*, 2008).

Karakterisasi Isolat Terpilih

Isolat bakteri yang mampu tumbuh pada konsentrasi CuSO_4 400-500 mg/L diwarnai dengan pewarnaan gram. Bakteri gram negatif berbentuk basil diidentifikasi dengan API 20 NE dan bakteri gram positif berbentuk basil diidentifikasi dengan API 50 CHB. API 20 NE dan API 50 CHB merupakan hasil produk Biomerieux yang menggunakan serangkaian uji biokimia untuk mengidentifikasi bakteri. Hasil uji biokimia diidentifikasi dengan menggunakan software dengan melihat % ID untuk menentukan spesies bakteri yang diidentifikasi (Sireis *et al.*, 2011). Hasil uji biokimia dapat dilihat pada Tabel 3 dan Tabel 4. Dari hasil identifikasi, isolat C38 mirip dengan *Bacillus cereus*, isolat C40 mirip dengan *Bacillus subtilis*, isolat C43 mirip dengan *Lysinibacillus fusiformis* dan isolat C53 mirip dengan *Pseudomonas aeruginosa*.

Tabel 3. Karakterisasi Bakteri Gram Negatif (-), menggunakan API 20NE

Isolat C53	
Uji API 20 NE	Hasil
Potassium Nitrate	+
L-tryptophane	-
D-glucose	-
L-arginine	-
Urea	+
Esculin ferric citrate	-
Gelatin (bovine origin)	+
4-nitrophenyl- β Dgalactopyranoside	-
D-glucose	+
L-arabinose	-
D-mannose	-
D-mannitol	+
N-acetyl-glucosamine	+
D-maltose	-
potassium gluconate	+
capric acid	+
adipic acid	+
malic acid	+
malic acid	+
phenylacetic acid	-
Oksididase Test	+

Ket: (-) negative ; (+) positif



Tabel 4. Karakterisasi Bakteri Gram Positif (+), menggunakan API 50 CHB

Uji API 50 CHB	Isolat		
	C38	C40	C43
Glycerol	+	+	-
Erytrithol	+	+	-
D-Arabinose	+	+	+
L-Arabinose	+	+	+
Ribose	+	+	+
D-Xylose	+	-	-
Adonithol	-	+	-
B-Methyl-Xyloside	+	+	+
Galactose	+	+	+
D-Glucose	+	+	+
L-Fructose	+	+	+
L-Sarbose	+	+	-
Rhamnose	+	-	+
Dulcitol	+	+	-
Inocitol	+	+	+
Mannitol	+	+	+
Sorbitol	+	+	-
α -Methyl-D-Mannoside	+	+	-
α -Methyl-D-Glucose	+	+	+
N-Acetyl-Glutamine	+	+	+
Amygdalin	+	+	+
Arbutin	+	+	+
Esculin	-	+	+
Salicin	+	+	+
Allobiose	+	+	+
Maltose	+	+	+
Lactose	+	+	+
Melibiose	+	+	+
Saccharose	+	+	+
Trehalose	+	+	+
Inulin	-	-	-
Melezitose	-	-	-
D-Raffinose	-	-	+
Amidon	+	-	+

Lanjutan Tabel 4.

Uji API 50 CHB	Isolat		
	C38	C40	C43
Glycogene	-	-	+
Zylitol	+	+	-
B- gentibiose	+	+	+
D-furanose	-	-	-
D- lyxose	-	-	-
D-Tagatose	-	-	-
L-fucose	-	-	-
D-Arabitol	+	-	+
L-Arabitol	-	-	-
Gluconate	-	-	+
2-Keto-Gluconate	-	+	-
5- Keto-Gluconate	-	-	-

Ket: (-) negative ; (+) positif

Kesimpulan

Hasil isolasi resisten tembaga dari tailing PTFI diperoleh 89 isolat, 75 isolat mampu tumbuh pada konsentrasi CuSO_4 100-300 mg/L. Seleksi bakteri resisten tembaga untuk mengetahui batas minimum konsentrasi CuSO_4 yang menghambat pertumbuhan setiap isolat (*Minimum Inhibitory Concentration/MIC*), diperoleh 10 isolat yang tumbuh sampai pada konsentrasi CuSO_4 300 mg/L, empat isolat mampu tumbuh pada konsentrasi CuSO_4 400mg/L (Isolat C38, C40, C43 dan C53) dan dua isolat mampu tumbuh sampai pada konsentrasi 500 mg/L (Isolat C38 dan C40). Kemampuan isolat C38 dan C40 yang mampu tumbuh sampai konsentrasi 500 mg/L, diduga karena bakteri tersebut sudah memiliki kemampuan mengembangkan mekanisme resistensi untuk bertahan dalam lingkungan dengan konsentrasi tembaga yang tinggi

Hasil identifikasi dengan menggunakan API 20 NE dan API 50 CHB, isolat C38 mirip dengan *Bacillus cereus*, isolat C40 mirip dengan *Bacillus subtilis*, isolat C43 mirip dengan *Lysinibacillus fusiformis* dan isolat C53 mirip dengan *Pseudomonas aeruginosa*.

Ucapan Terima Kasih

Trima kasih kepada Pimpinan Departement Environmental PT Freeport Indonesia beserta jajarannya yang telah memberikan ijin dan fasilitas di lapangan pada saat pengambilan sampel.

Daftar Pustaka

- Andareazza, R, S. Pieniz, B. C. Okeke, F. A. O. Camargo, and F. M. Bento. 2010. Characterization of Copper Biosorption and Bioreduction by Copper Resistant Bacteria Isolated from a Vineyard Soil. 19th World Congress of Soil Science, Soil Solution for a Changing World, 1-6 August, 2010, Brisbane, Australia.
- Andareazza, R, S. Pieniz, B. C. Okeke, and F. A. O. Camargo. 2011. Evaluation Of Copper Resistant Bacteria From Vineyard Soils And Mining Waste For Copper Biosorption, Brazilian Journal of Microbiology, 42, 66-74.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Stanley, J.T. and Williams, S.T. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9th edition. pp 667-669. New York: William and Wilkins.
- Irawati, W., Yuwono, T., Soedarsono, J., and Hartiko, H. 2012. Molecular and Physiological Characterization of Copper Resistant Bacteria Isolated from Activated Sludge in an Industrial Wastewater Treatment Plant in Rungkut-Surabaya, Indonesia. Jurnal Mikrobiologi Indonesia, 6 (3), 107 - 116.
- Leary, S.C. and D.R. Winge. 2007. The Janus Face of Copper: Its Expanding Roles in Biology and the Pathophysiology of Disease. EMBO Reports, 8(3), 224-227.
- Narin, B. (2003) World of Microbiology and Immunology, Vol.1 and 2. Detroit: Gale.
- PTFI. (2008) Laporan Pelaksanaan Pengelolaan dan Pemantauan Lingkungan. Departemen Lingkungan PT Freeport Indonesia, Jakarta.
- Saxena, D., N. Joshi, and S. Srivastava. 2002. Mechanism of Copper Resistance in a Copper Mine Isolate *Pseudomonas putida* Strain S4. Current Microbiology, 45, 410-414.



- Sireis, W., Ruster, B., Daiss, C., Hourfar, H.G., Capalbo, G., Pfeiffer, H.U., Janetzko, M. Goebel, Kempf, V.A. J., Seifried, and Shmidt, M., 2011. Extension of platelet shelf life from 4 to 5 days by implementation of a new screening strategy in Germany. *Vox Sanguines*.
- Timika Environmental Laboratory (TEL). (2015) Soil Monitoring (Sampel Tailing Studi S3 UGM).
- Wheelis, Mark. (2007) Principles of Microbiology. Jones & Bartlett Publishers.
- Yong J.P., Jae J.K., Sang L.Y., Eun Y.L., So J.K., Sung W.K., Byung C.L., and Seog K.K. 2008. Enhancement of bioremediation by *Ralstonia sp* HM-1 in sedimen polluted by Cd and Zn. *Bioresour Technol.*, 99(16), 7458-7463. Doi: 10.1016/ j.biortech.2008.02.024.