



**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BIOKIMIA BAKTERI ASAL SUNGAI BATANG GADIS
SUMATERA UTARA**

Mhd. Yusuf Nasution, Ahmad Shafwan S. Pulungan, Fitri Chairani, Wulandari
Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Medan
email korespondensi : yusufnasution1963@gmail.com

Diterima: Oktober 2020; Direvisi: November 2020; Disetujui: Desember 2020

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan di laboratorium mikrobiologi Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Medan. Waktu penelitian dari bulan Juni – Oktober 2020. Populasi dalam penelitian ini adalah semua bakteri yang diperoleh dari tanah dan air dari lokasi tambang emas Mandailing Natal, Sumatera Utara. Sampel dalam penelitian ini adalah sampel total, yaitu semua bakteri yang diperoleh dari lokasi tambang emas Mandailing Natal, Sumatera Utara. Penelitian dilakukan dengan pengambilan sampel, isolasi bakteri yang meliputi penanaman sampel pada media perkaya, penanaman sampel pada berbagai media tanam, pemurnian koloni bakteri, pengamatan morfologi koloni bakteri, identifikasi bakter dan uji sensitivitas bakteri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa didapatkan 3 spesies bakteri yaitu 3 spesies *Escherich ia coli*, 1 spesies *Klebsiella pneumonia*, dan 2 spesies *Aeromonas sobria* dari hasil uji Vitek. Dalam pengujian biokimia terhadap 47 aktivitas biokimia, dari semua isolate yang diujikan mendapatkan hasil yang beragam dengan ditandai dengan positif dan negative.

Kata Kunci: Isolasi Bakteri, Air Sungai, biokima, uji

**ISOLATION AND IDENTIFICATION OF BIOCHEMICAL BACTERIA ORIGIN OF GADIS RIVER
NORTH SUMATRA**

Abstract

This research was conducted in the microbiology laboratory, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Medan State University. The research time was from June to October 2020. The population in this study were all bacteria obtained from soil and water from the Mandailing Natal gold mine, North Sumatra. The sample in this study was a total sample, which is all bacteria obtained from the Mandailing Natal gold mine, North Sumatra. The research was conducted by taking samples, isolating bacteria which included planting samples on enriched media, planting samples on various growing media, purifying bacterial colonies, observing bacterial colony morphology, identifying bacteria and testing bacterial sensitivity. The results showed that 3 species of bacteria were obtained, namely 3 species of *Escherich ia coli*, 1 species of *Klebsiella pneumonia*, and 2 species of *Aeromonas sobria* from the Vitek test results. In biochemical testing of 47 biochemical activities, of all tested isolates got mixed results, marked as positive and negative.

Keywords : *Bacteria Isolation, River, Biochemistry, test*

Pendahuluan

Sungai merupakan tempat hidup yang baik bagi beberapa jenis bakteri. Kualitas pasokan air yang berasal dari daerah tangkapan di pengaruhi oleh aktifitas manusia yang ada didalamnya. Salah satu faktor yang mempengaruhi adalah aktivitas

pertambangan yang dilakukan disekita daerah aliran sungai. Sektor pertambangan khususnya pertambangan emas, perlu mendapatkan perhatian khusus oleh publik karena mempunyai resiko kerusakan lingkungan yang tinggi. Salah satu

masalah yang sampai saat ini masih menjadi permasalahan adalah banyaknya kegiatan pertambangan liar (tanpa ijin).

Permasalahan utama dalam pertambangan emas tanpa izin adalah penggunaan bahan dan zat berbahaya dalam pengolahannya. Limbah yang dihasilkan umumnya masih mengandung merkuri (Esdaile, 2018). Merkuri yang sering digunakan dalam penambangan bijih emas adalah merkuri elemental yaitu merkuri dalam bentuk aslinya (Marrugo, 2017).

Kandungan mineral logam (khususnya emas) sudah sejak lama tersimpan di daerah Kabupaten Mandailing Natal. Cadangan bahan tambang emas yang terdapat di Kabupaten Mandailing Natal (Madina), Provinsi Sumatera Utara cukup besar dan mencapai 1,5 juta ounce (Au) dengan kadar 2,2 gram ton Au.

Pertambangan emas di Madina sudah ada sejak 2008. Maraknya penambangan liar yang menggunakan bahan berbahaya menjadikan munculnya berbagai penyakit yang ditimbulkan akibat buangan limbah logam berat berbahaya ke lingkungan. Salah satu alternatif penanggulangan lingkungan tercemar merkuri adalah dengan Teknik bioremediasi, yang merupakan salah satu pemanfaatan mikroorganisme untuk memperbaiki lingkungan yang tercemar.

Dangi (2019) menjelaskan bahwa peran mikroba dalam pengolahan air limbah sudah banyak memberikan hasil yang menggembirakan. Senyawa-senyawa organik yang terdapat dalam air limbah merupakan sumber nutrisi bagi mikroba. Mikroba akan mengurai senyawa-senyawa tersebut menjadi bentuk yang lebih sederhana dan stabil sehingga kadar zat pencemar yang terkandung dalam limbah tersebut menjadi turun. Reaksi enzimatik oleh bakteri merupakan kunci terselenggaranya proses transformasi bertahap dalam pengelolaan air limbah dari substrat yang umumnya berupa bahan organik dengan susunan molekul kompleks, menjadi unsur-unsur yang sederhana.

Beberapa jenis bakteri diketahui mempunyai kemampuan mereduksi atau menyerap logam berat. Bakteri yang tahan terhadap cekaman merkuri disebut bakteri resisten merkuri (BRM). Mekanisme yang terdapat dalam BRM untuk mereduksi merkuri salah satunya dengan mengubah Hg^{2+} menjadi Hg^0 dengan enzim merkuri reductase yang dikode gen merA (Iftita, et al. 2014).

Potensi yang dimiliki oleh bakteri dalam mereduksi logam berat (merkuri) merupakan suatu Teknik yang ramah lingkungan dalam memperbaiki lingkungan tersebut. Sebagai upaya awal dalam mengetahui jenis bakteri yang mampu mereduksi merkuri, maka perlu dilakukan penelitian

pendahuluan untuk mengetahui jenis bakteri yang resisten terhadap kandungan merkuri di lahan tambang emas di Mandailing Natal, Sumatera Utara.

Bahan Dan Metode

Penelitian ini dilakukan di laboratorium mikrobiologi Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Medan. Waktu penelitian ini direncanakan mulai bulan Juni – Oktober 2020. Populasi dalam penelitian ini adalah semua bakteri yang diperoleh dari tanah dan air dari lokasi tambang emas Mandailing Natal, Sumatera Utara. Sampel dalam penelitian ini adalah semua bakteri yang diperoleh dari lokasi tambang emas Mandailing Natal, Sumatera Utara.

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel tanah dan air limbah yang diperoleh dari lokasi tambang emas Mandailing Natal, Sumatera Utara, tisu, kertas payung, karet, kapas, plastik wrap, aluminium foil, masker, sarung tangan, spidol marker, larutan standar merkuri, aquades, spiritus, alkohol 70%, plastik tebal berperekat, HCl, NaOH, HNO_3 . Selain itu, bahan media yang dibutuhkan adalah Media BHI (*Brain Heart Infusion*), LDS (*Lactosa Double Streng*), EMBA (*Eosin Methylen Blue Agar*), Cled Agar, MSA (*Manitol Salt Agar*), MCA (*Mac Conkey Agar*), Blood Agar, NaCl, $HgCl_2$ produksi Merck Jerman, serta reagen untuk uji Gram positif dan negatif.

Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain *Laminar Air Flow* dengan merk lokal, autoklaf dengan merk Hirayama HVE50, oven dengan merk Memmert, cawan Petri dengan merek pyrex, tabung reaksi dengan merek pyrex, inkubator dengan merk Memmert Churt, pipet ukur dengan merk pyrex, lemari es dengan merk LG, mesin PCR, jarum ose, neraca digital dengan merk sartorius, Beaker glass dengan merk pyrex, spatula, Erlenmeyer dengan merk pyrex, gelas ukur dengan merk pyrex, labu ukur dengan merk pyrex, mikropipet dengan merk Accumax pro, aplikasi Bioedit dan Mega.

Pengambilan Sampel

Sampel diambil dari lokasi tambang emas Mandailing Natal, Sumatera Utara. Sampel dari masing-masing tempat penampungan diambil sebanyak 250 ml kemudian dimasukkan ke dalam botol reagen gelap dan dibawa menggunakan media transport. Selanjutnya, 50 ml sampel dari tiap botol diambil dan dicampur ke dalam botol yang masing-masing telah berisi 450 ml Nutrient Broth. Campuran tersebut kemudian dipropagasi pada suhu kamar selama 5 hari. Propagasi bertujuan untuk memperbanyak kultur bakteri.

Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri

Pengamatan morfologi koloni bakteri yang telah murni dilakukan dengan melihat bentuk koloni, bentuk tepian koloni, dan warna koloni. Koloni tunggal pada media tanam selanjutnya diteruskan pada uji identifikasi bakteri menggunakan *Vitek 2 Compact*.

Identifikasi bakteri dengan Vitek Compact 2

Identifikasi menggunakan alat Vitek Compact 2 dengan mengambil tabung Polystyren 75 mm lalu isi dengan 3 mm larutan NaCl fisiologis. Lalu ambil satu koloni bakteri murni yang sudah diisolasi dengan cotton bud steril. Masukkan kedalam larutan NaCl fisiologis, aduk sampai larutan homogen lalu ukur kekeruhan larutan sampai 0.54 McF dengan alat Densicheck. Ambil card Vitex Compact 2 dan tempatkan transfer tube ke dalam larutan suspense. Lakukan hal yang sama untuk sampel yang lain dan beri sampel. Lalu masukkan data suspensi sampel ke computer vitex compact 2 dan scan card vitex dengan barcode. Masukkan card vitex ke dalam mesin Vitek Compact 2 yaitu pada ruang pengambilan data. Tekan enter pada mesin Vitex dan tunggu sampai bunyi alarm pada mesin Vitek. Selanjutnya pindahkan sampel pada ruang inkubator pada mesin Vitek. Tunggu sampai hasil identifikasi bakteri keluar pada layar komputer Vitek. Identifikasi bakteri telah selesai dan hasilnya bisa di print.

Hasil Dan Pembahasan

Pengamatan Koloni Bakteri

Berdasarkan hasil pengamatan koloni bakteri pada media MCA, Blood Agar, EMBA dan Cled Agar, yang sebelumnya telah ditanam pada media perkaya BHI dan LDS, terdapat 6 koloni bakteri yang berbeda karakteristik. Morfologi koloni tersebut berdasarkan bentuk, tepian dan warna yaitu, bulat, rata, abu-abu; bulat, rata, hijau metalik; bulat, rata, merah keunguan; bulat, rata, merah pekat; bulat, rata, merah muda dan bulat, rata, merah. Dari keenam koloni tersebut sudah mencakup semua karakteristik dari koloni yang berhasil ditanam pada berbagai media.

Hasil pertumbuhan bakteri pada media perkaya LDS dan BHI ditanam sebanyak 1 ose pada media umum yaitu Blood Agar dan Cled Agar, media selektif khusus gram negatif yaitu EMBA dan MCA, dan media selektif khusus gram positif yaitu MSA. Hasil pertumbuhan koloni bakteri setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C menunjukkan pertumbuhan koloni dengan karakteristik yang beragam.

Pertumbuhan bakteri pada media umum yaitu Blood Agar menunjukkan koloni dengan bentuk bulat, tepian rata, dan berwarna abu-abu

kering. Media Blood Agar mampu membedakan bakteri hemolitik dan non hemolitik berdasarkan kemampuan mereka melisis sel-sel darah merah. Koloni bakteri yang tumbuh menunjukkan terbentuknya alpha hemolisis, yaitu lisis sebagian sel darah merah dan hemoglobin pada media Blood Agar. Kemudian pada media Cled Agar didapatkan koloni bakteri dengan bentuk bulat, tepian gelombang dan berwarna putih kekuningan. Adanya laktosa dan indicator pH yaitu bromtimol biru pada media Cled Agar difermentasikan oleh bakteri sehingga terbentuk koloni berwarna kuning.

Selanjutnya pada media selektif khusus gram negatif yaitu EMBA didapatkan koloni dengan bentuk bulat, tepian rata dan berwarna merah tua. Media EMBA mengandung laktosa, pepton, eosin dan methylen blue. Pertumbuhan koloni berwarna merah tua disebabkan kemampuan mikroba memfermentasikan laktosa. Eosin dan methylen blue berfungsi untuk mempertajam perbedaan warna koloni. Sedangkan pada media MCA didapatkan koloni bakteri berbentuk bulat, tepian rata dan berwarna merah muda. Media MCA mengandung pepton, NaCl, garam empedu, pH indikator merah netral dan kristal violet. Pertumbuhan koloni berwarna merah menunjukkan kemampuan bakteri memfermentasi laktosa.

Setelah itu, pada media selektif khusus gram positif yaitu MSA tidak didapatkan pertumbuhan koloni bakteri. Media MSA mengandung NaCl, manitol dan indikator pH phenol red. Koloni bakteri yang tumbuh mampu memfermentasi manitol menjadi asam sehingga merubah warna indicator phenol red dari merah menjadi kuning. Sedangkan pada sampel ini tidak ada didapatkan pertumbuhan bakteri.

Dari semua koloni yang tumbuh pada berbagai media umum dan khusus, diambil isolat tunggal dari media Blood Agar, EMBA dan MCA. Selanjutnya masing-masing koloni yang berbeda karakteristiknya ditanam kembali pada media tanam yang sesuai untuk mendapatkan koloni murni dan tunggal, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil pertumbuhan koloni bakteri dilanjutkan dengan mengidentifikasi koloni bakteri tunggal menggunakan Vitek Compact 2.

Identifikasi Koloni Bakteri menggunakan Vitek Compact 2

Identifikasi koloni bakteri hanya dapat dilakukan dengan memasukkan koloni tunggal ke dalam mesin vitek compact 2, agar hasil identifikasi dapat dibaca dengan baik. Terdapat 6 koloni tunggal bakteri yang siap di identifikasi. Koloni tunggal bakteri diisolasi dengan cotton bud steril dan disuspensikan ke dalam larutan NaCl fisiologis dan diukur kekeruhannya sampai 0,54 McF. Kemudian

bakteri yang telah disuspensikan dimasukkan ke dalam ruang pengambilan data dan dilanjutkan pada ruang inkubasi. Hasil identifikasi didapatkan

setelah beberapa jam dan akan muncul pada layar computer Vitek Compact 2.

Tabel 1. Hasil Identifikasi bakteri menggunakan Vitek Compact 2

No.	Kode Sampel	Nama Bakteri	Waktu Analisis	Tingkat Kepercayaan
1	27	<i>Escherichia coli</i>	3,85 jam	99%
2	28	<i>Klebsiella pneumonia</i>	4,82 jam	97%
3	29	<i>Escherichia coli</i>	4,80 jam	91%
4	30	<i>Escherichia coli</i>	4,32 jam	99%
5	31	<i>Aeromonas sobria</i>	5,82 jam	90%
6	33	<i>Aeromonas sobria</i>	5,82 jam	96%

Pada Tabel 1. menunjukkan kode sampel 27 merupakan bakteri *Escherichia coli*. Dianalisis selama 3,85 jam dengan tingkat kepercayaan 99%. Pada kode 28 didapatkan hasil identifikasi berupa bakteri *Klebsiella pneumonia*. Dianalisis selama 4,82 jam dengan tingkat kepercayaan 97%. Pada kode 29 didapatkan hasil identifikasi berupa bakteri *Escherichia coli*. Dianalisis selama 4,80 jam dengan tingkat kepercayaan 91%. Pada kode sampel 30 didapatkan hasil identifikasi berupa bakteri *Escherichia coli*. Dianalisis selama 4,32 jam dengan

tingkat kepercayaan 99%. Pada kode sampel 31 didapatkan hasil identifikasi berupa bakteri *Aeromonas sobria*. Dianalisis selama 5,82 jam dengan tingkat kepercayaan 90%. Dan pada kode sampel 33 didapatkan hasil identifikasi berupa bakteri *Aeromonas sobria*. Dianalisis selama 5,82 jam dengan tingkat kepercayaan 96%.

Berdasarkan hasil analisis biokimia yang dilakukan terhadap seluruh isolate bakteri diperoleh data terkait aktivitas biokimia bakteri tersebut.

Tabel 2. Hasil analisis biokimia bakteri

No	Aktivitas Biokimia	Jenis Bakteri					
		<i>Escherichia coli</i> (27)	<i>Klebsiella pneumonia</i> (28)	<i>Escherichia coli</i> (29)	<i>Escherichia coli</i> (30)	<i>Aeromonas sobria</i> (31)	<i>Aeromonas sobria</i> (33)
1	APPA	-	-	-	-	+	+
2	ADO	-	+	+	-	-	-
3	PyrA	-	+	-	-	+	+
4	IARL	-	-	-	-	-	-
5	dCEL	-	+	-	-	-	-
6	BGAL	+	+	+	+	+	-
7	H2S	-	-	-	-	-	+
8	BNAG	-	+	-	-	+	+
9	AGLTp	-	-	-	-	+	-
10	dGLU	+	+	+	+	+	+
11	GGT	-	+	-	-	-	-
12	OFF	+	+	+	+	+	-
13	BGLU	-	+	+	-	+	-
14	dMAL	+	+	+	+	+	+
15	dMAN	+	+	+	+	+	-
16	dMNE	+	+	+	+	+	+
17	BXYL	-	+	-	-	-	-
18	BAlap	-	-	-	-	-	-
19	ProA	-	+	+	-	+	-
20	LIP	-	-	-	-	-	-
21	PLE	-	+	-	-	-	-
22	TyrA	+	+	+	+	+	+
23	URE	-	+	-	-	+	-

24	dSOR	+	+	+	+	-	-
25	SAC	+	+	+	+	+	-
26	dTAG	-	+	-	-	-	-
27	dTRE	+	+	+	+	+	+
28	CIT	-	+	-	-	-	-
29	MNT	-	+	-	-	+	-
30	5KG	-	-	-	-	-	-
31	ILATk	-	+	+	-	+	+
32	AGLU	-	-	-	-	+	+
33	SUCT	-	+	+	+	+	-
34	NAGA	-	-	-	-	+	-
35	AGAL	+	+	+	+	-	-
36	PHOS	-	+	-	-	-	-
37	GlyA	-	-	-	-	-	-
38	ODC	+	-	+	+	-	-
39	LDC	+	+	+	+	-	-
40	IHISa	-	-	-	-	-	-
41	CMT	+	-	+	+	+	+
42	BGUR	+	-	+	+	-	-
43	O129R	-	+	+	+	+	+
44	GGAA	-	-	-	-	+	-
45	IMLTa	-	-	-	-	+	-
46	ELLM	-	-	-	-	+	-
47	ILATa	-	-	-	-	-	-

Keterangan:

APPA = Ala-Phe-Pro-Arylamidase; AD0 = Adonitol; PyrA = L-Pyrrolydonyl-Arylamidase; IARL = L-Arabitol; dCEL = D-Cellobiose; BGAL = Beta-Galactosidase; H2S = H2S Production; BNAG = Beta-N-Acetyl-Glucosaminidase; AGLTp = Glutamyl Arylamidase Pna; dGLU = D-Glucose; GGT = Gamma-Glutamyl-Transferase; OFF = Fermentation/Glucose; BGLU = Beta Glucosidase; dMAL = D-Maltose; dMAN = D-Mannitol; dmNE = D-Mannose; BXYL = Beta-Xylosidase; BAlap = Beta-Alanine-Arylamidase Pna; ProA = L-Proline Arylamidase; LIP = Lipase; PLE = Palatinose; TyrA = Tyrosine-Arylamidase; URE = Urease; dSOR = D-Sorbitol; SAC = Saccharose/Sucrose; dTAG = D-Tagatose; dTRE = D- Trehalose; CIT = Citrate (Sodium); MNT = Malonate; 5KG = 5-Keto-D-Gluconate; ILATk = L-Lactate-alkalinisation; AGLU = Alpha-Glucosidase; SUCT = Succinate alkalization; NAGA = Beta-N-Acetyl-Galactosaminidase; AGAL = Alpha-Galactosidase; PHOS = Phosphatase; GlyA = Glycine Arylamidase; ODC = Ornithine Decarboxylase; LDC = Lysine Decarboxylase; IHISa = L-Histidine assimilation; CMT = Coumarate; BGUR = Beta-Glucuronidase; O129R = O/129 Resistance (comp.Vibrio.); GGAA = Glu-Gly-Arg-Arylamidase; IMLTa = L-Malate assimilation; ELLM = Ellman; ILATa = L-Lactate assimilation.

Uji biokimia merupakan salah satu cara dalam melakukan identifikasi untuk menentukan genus atau spesies bakteri tertentu. Pada prinsipnya, uji biokimia dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mereaksikan senyawa kimia sehingga menghasilkan senyawa kimia yang lain yang dikaitkan dengan sifat bakteri itu sendiri. Umumnya, untuk mengetahui adanya reaksi tertentu diperlukan suatu senyawa indikator atau reagen yang berbeda-beda tergantung bahan kimia yang ditambahkan.

Uji biokimia dilakukan untuk mengetahui sifat-sifat fisiologis koloni bakteri hasil isolasi. Biokimia bakteri berkaitan dengan proses metabolisme sel bakteri (Gobbetti, 2005). Identifikasi bakteri tidak dapat dilakukan dengan mengetahui sifat morfologinya saja, namun harus mengetahui sifat fisiologis bakteri juga (Liempepas, 2019). Sifat fisiologis bakteri sangat penting diketahui apabila melakukan identifikasi bakteri karena sifat morfologis bakteri dapat tampak

serupa bahkan tidak dikenal sehingga dengan melakukan uji biokimia terhadap koloni bakteri dapat mengetahui sifat dan menentukan spesies bakteri.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan 6 spesies bakteri dari air sungai Batang Gadis, Mandailing Natal, Sumatera Utara yaitu S27 (*Acinetobacter baumannii* strain DSM 30007), S28 (*Aeromonas veronii* *bv.* *veronii* strain ATCC 35624), S29 (*Escherichia fergusonii* ATCC 35469 16S), S30 (*Klebsiella quasipneumoniae* *subsp.* *similipneumoniae* strain 07A044), S31 (*Aeromonas veronii* *bv.* *veronii* strain ATCC 35624), dan S33 (*Bacillus paramycooides* strain MCCC 1A04098).

Daftar Pustaka

Dangi, A.K., Sharma, B., Hill, R.T. and Shukla, P., 2019. Bioremediation through microbes: systems biology and metabolic engineering

- approach. Critical reviews in biotechnology, 39(1), pp.79-98.
- Esdaile, L.J. and Chalker, J.M., 2018. The Mercury Problem in Artisanal and Small-Scale Gold Mining. *Chemistry–A European Journal*, 24(27), pp.6905-6916.
- Gobbetti, M., De Angelis, M., Corsetti, A., & Di Cagno, R. (2005). Biochemistry and physiology of sourdough lactic acid bacteria. *Trends in Food Science & Technology*, 16(1-3), 57-69.
- Hadi, M.C., 2013. Bahaya merkuri di lingkungan kita. *Skala Husada*, 10(2), pp.175-183.
- Hagstrom A. Pommier T. Rohwer F. Simu K. Stolte W. Svensson D, Zweifel UI. 2002. *Use of 16S ribosomal DNA for delineation of marine bacterioplankton species. Appl Environ Microbiol.* 68 (7): 3628-3633
- Handelsman, J. 2004. *Metagenomics: Application of Genomics to Uncultured Microorganisms. Microbiology and molecular Biology*, 68 (4), hlm. 669-685
- Iftita, W.D., Shovitri, M. and Zulaika, E., 2014. Pengaruh HgCl₂ terhadap Viabilitas Bacillus S1 dan Potensi Enzim Pendeградasi Senyawa Organik. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 3(1), pp.E26-E29.
- Liempepas, A., Lolo, W. A., & Yamlean, P. V. 2019. Isolasi Dan Uji Antibakteri Dari Isolat Bakteri Yang Berasosiasi Dengan Spons Callyspongia aerizusa Serta Identifikasi Secara Biokimia. *Pharmacon*, 8(2), 380-387.
- Marrugo-Negrete, J., Enamorado-Montes, G., Durango-Hernández, J., Pinedo-Hernández, J. and Díez, S., 2017. Removal of mercury from gold mine effluents using *Limnocharis flava* in constructed wetlands. *Chemosphere*, 167, pp.188-192.
- Nascimento, A.M.A. dan Souza, E.C. 2003. Operon mer: bacterial resistance to mercury and potential for bioremediation of contaminated environments. *Genetics and Molecular Research*, 2: 92-101.
- Pepi, M, Gaggi, C, Bernardini, E, Focardi, S, Lobianco, A, Ruta, M, Nicolardi, V, Volterrani, M, Gasperini, S, Trinchera, G, Renzi, P, Gabellini, M, Focardi, S, E. 2011. *International Biodeterioration & Biodegradation.* 65(1):85-91
- Rojas, L.A., Yanez, C., Gonzalez, M., Lobos, S., Smalla, K. dan Seeger, M. 2011. Characterization of the metabolically modified heavy metal-resistant *Cupriavidus metallidurans* strains MSR33 generated for mercury bioremediation. *PLoS ONE*, 6: 1-10.
- Sakinah, A.L. and Zulaika, E., 2014. Resistensi *Azotobacter* terhadap HgCl₂ yang Berpotensi Menghasilkan Enzim Merkuri Reduktase. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 3(2), pp.E84-E86.
- Suryani, Y., 2011. Bioremediasi Limbah Merkuri dengan Menggunakan Mikroba Pada Lingkungan yang Tercemar. *Jurnal Istek*, 5(1-2).
- Zeyauallah, Md., Islam, B. dan Ali, A. 2010. Isolation, identification, and PCR amplification of merA gene from highly mercury polluted Yamuna River. *African Journal of Biotechnology*, 9: 3510-3515.