

FORMULASI INOKULUM BAKTERI PEREDUKSI SULFATE YANG DIISOLASI DARI *Sludge* INDUSTRI KERTAS UNTUK MENGATASI AIR ASAM TAMBANG

Inoculum Formulation of Sulfate-Reducing Bacteria Isolated From Sludge of Paper Mills for Remediation Acid Mine Drainage

Eddy Widyati

Peneliti pada Pusat Litbang Hutan dan Konservasi Alam, Bogor
e-mail: eddy_widyati@yahoo.com

Naskah masuk : ; Naskah diterima :

ABSTRACT

Acid mine drainage (AMD) is characterized by extreme acidity followed by metals accumulation. To cope up this problem, sulfate reducing bacteria (SRB) can be employed. The bacteria are able to reduce sulfate produced due to sulphide-minerals oxidation. As a result, pH will be increased and metals accumulation will be reduced. This research is aimed at finding an applicable inoculum for treating the AMD. SRB was isolated from sludge of paper mills. After finding the most effective isolate, they were cultured in a trigger-riched of organic matter. Result showed the most effective isolate is isolate 4. The most appropriate dosage of inoculum (w/v) and incubation time (days) was 1% (w/v) to increase pH (1 day), 5% (w/v) to reduce Fe (4 days), 10% (w/v) to reduce Sulfate (4 days) and 10% to reduce Mn (2 days), respectively. It is suggested that sludge of paper mills can be developed as a BPS source to produce AMD inoculum.

Keywords : *acid mine drainage, inoculum formulation, sludge of paper mills, sulfate reducing bacteria*

ABSTRAK

Air asam tambang (AAT) ditandai dengan rendahnya pH dan tingginya akumulasi logam-logam. Bakteri pereduksi sulfat (BPS) dapat dimanfaatkan untuk memperbaiki sifat-sifat kimia AAT tersebut. Bakteri ini dapat mereduksi sulfat yang dihasilkan selama terjadinya oksidasi mineral sulfidik. Aktivitas bakteri ini mengakibatkan pH meningkat dan akumulasi logam dapat diturunkan. Tujuan dari penelitian ini adalah mendapatkan formulasi inokulum BPS sehingga pengguna di lapangan mudah untuk mengaplikasikan. BPS diisolasi dari *sludge* industri kertas, kemudian diseleksi untuk mendapatkan isolat paling efektif. Selanjutnya isolat dibiakkan pada media padat berupa bahan organik yang ditambah *trigger*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat yang paling efektif adalah isolat 4. Dosis inokulum BPS yang diperlukan untuk meningkatkan pH adalah 1% (berat/volume) (1 hari), menurunkan sulfat dan Mn adalah 10% (berat/volume) sedangkan untuk menurunkan Fe adalah 5% (berat/volume) dalam waktu 2 - 4 hari.

Kata kunci : *air asam tambang, bakteri pereduksi sulfat, formula inokulum, sludge industri kertas*

I. PENDAHULUAN

Air asam tambang (AAT) sudah cukup lama menjadi masalah pada lahan pertambangan. AAT merupakan air yang mengalir atau yang terdapat pada daerah pertambangan yang mempunyai pH <3. AAT dapat terjadi pada lahan bekas pertambangan dengan batuan induk yang tersusun atas mineral sulfidik, baik pada lahan sisa galian maupun timbunan tailing.

Menurunnya pH akibat AAT memberikan serangkaian dampak pada lingkungan. Dampak penurunan pH yang paling penting adalah meningkatnya kelarutan logam-logam (Tan, 1993) termasuk logam berat (Hards and Higgins, 2004). Logam merupakan kofaktor dan aktivator enzim-enzim (Soepardi, 1983), sehingga apabila masuk ke dalam tubuh hewan, tumbuhan, mikroba dan manusia akan

mengacaukan sistem metabolisme. Oleh karena itu, kandungan logam harus menjadi perhatian utama pada pengelolaan air asam tambang. Karena pertambangan umumnya berada di daerah yang jauh dari fasilitas PDAM, di mana masyarakat yang terdapat di sepanjang daerah aliran sungai sangat menggantungkan hidupnya pada air sungai tersebut, maka pengelola pertambangan perlu memberikan perhatian terhadap kualitas air tersebut.

Apabila diidentifikasi, permasalahan utama AAT adalah terakumulasinya sulfat. Menurut banyak teori kandungan sulfat (termasuk dalam air asam tambang) dapat diturunkan dengan memanfaatkan aktivitas bakteri pereduksi sulfat (BPS). Karena BPS mampu menggunakan ion sulfat, sulfit atau thiosulfat sebagai aseptor elektron untuk mendapatkan energi dalam proses metabolismenya (Hards and Higgins, 2004). Ion-ion tersebut setelah menerima elektron akan tereduksi menjadi sulfida. Terbentuknya hidrogen sulfida juga akan sangat menguntungkan terhadap lingkungan yang mengandung logam terlarut tinggi. Karena senyawa ini sangat reaktif dan akan segera berreaksi dengan logam membentuk logam-sulfida yang sangat stabil. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada tanah bekas tambang batubara yang diberi perlakuan bahan organik yang dikoloni oleh BPS dapat menurunkan ketersediaan logam Fe, Mn, Zn dan Cu dalam tanah dengan efisiensi antara 68 - 97% setelah 15 hari inkubasi (Widyati, 2006).

Untuk pertumbuhannya BPS memerlukan donor elektron dari asam-asam organik berbobot molekul rendah seperti laktat, asetat, propionat, butirat, etanol yang dapat diperoleh dari mineralisasi bahan organik. Sedangkan sebagai sumber karbon (C) BPS memerlukan bahan organik sehingga BPS dikelompokkan ke dalam bakteri heterotrof (Sufliata *et al.*, 1997).

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan formulasi inokulum BPS yang diisolasi dari limbah padat industri kertas. Dengan diperolehnya formulasi inokulum yang berisi BPS yang efektif maka akan memudahkan aplikasi di lapangan.

II. BAHAN DAN METODE

1. Isolasi BPS dari Limbah Padat Industri Kertas (*Sludge*)

Isolasi BPS dilakukan dengan menggunakan Media Postgate yang dimodifikasi (Widyati, 2006), dengan komposisi (g/l) Na laktat (3,5); MgSO₄ (2); NH₄Cl (0,2); KH₂PO₄ (0,5); FeSO₄.7H₂O (0,5), Agar (16). Media diisikan pada tabung reaksi sampai penuh dan ditutup rapat. Setelah disterilkan dengan otoklaf 121°C, 1 atm selama 15 menit selanjutnya didinginkan. Setelah dingin dimasukkan contoh *sludge* yang sudah dibuat seri pengenceran sampai 10⁻⁶. Inkubasi dilakukan pada suhu kamar, sebelumnya tabung yang berisi contoh *sludge* dimasukkan ke dalam *anaerobic jar* selama 2 - 5 hari. Pertumbuhan BPS ditandai dengan berubahnya warna coklat kehitaman sampai hitam pada tabung.

2. Uji Efektivitas Isolat

Isolat yang tumbuh selanjutnya diuji secara tunggal untuk meningkatkan pH, menurunkan sulfat, Fe dan Mn pada contoh air asam tambang.

3. Uji Penumbuhan pada Carrier

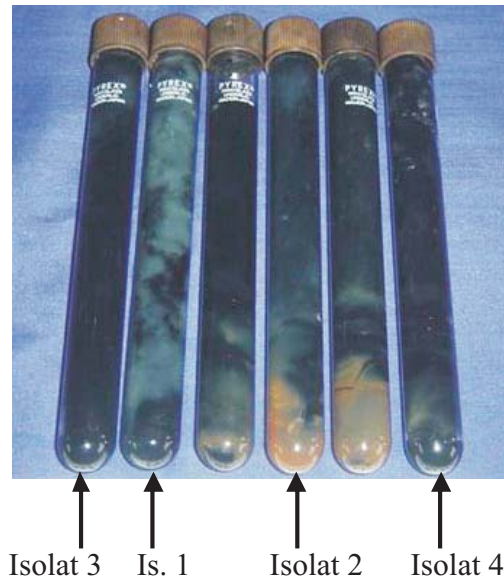
Setelah didapatkan isolat yang paling efektif dalam memperbaiki kualitas air asam tambang selanjutnya isolat efektif ditumbuhkan pada bahan organik. Bahan organik yang dipergunakan pada penelitian ini adalah kompos sampah yang dibeli dari TPA Galuga (K), bekatul (B), serbuk gergaji sengon (S), campuran K:B (1:1), K:S (1:1), B:S (1:1); K:B (3:1), K:S (3:1), B:S (3:1); K:B (1:3), K:S (1:3), B:S (1:3). Variabel yang diamati adalah ada tidaknya kontaminasi dan % pertumbuhan BPS yang ditumbuhkan ulang pada media Postgate.

4. Uji Efektivitas Inokulum pada Skala Laboratorium

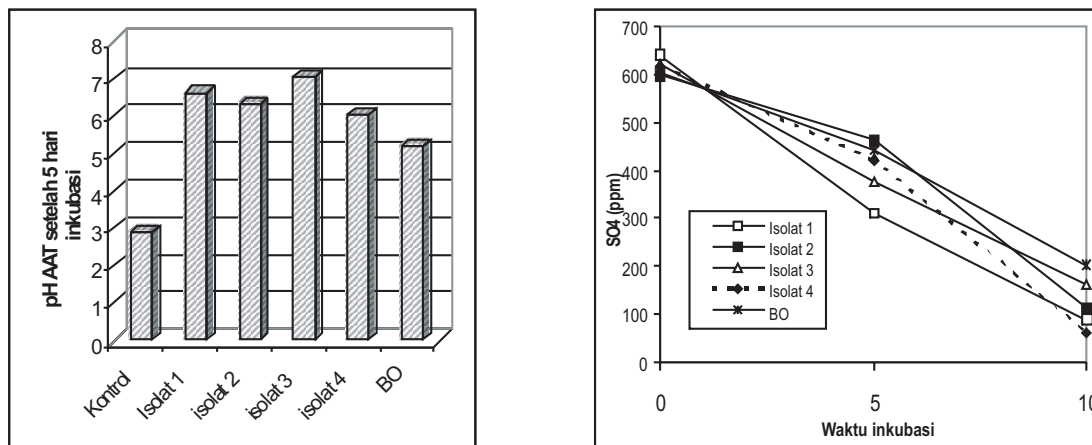
Setelah didapatkan formulasi inokulum terbaik selanjutnya dibuat "prototype" produk. Produk ini yang selanjutnya diuji untuk meningkatkan pH, menurunkan sulfat, Fe dan Mn air asam tambang dengan dosis aplikasi 1, 5, 10 dan 25% (berat inokulum per volume air asam tambang) serta satu seri tanpa perlakuan sebagai kontrol (0%).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat yang terisolasi dikarakterisasi menjadi 4 kelompok isolat, yaitu hitam dengan abu-abu merata (Isolat 1), hitam dasarnya coklat (Isolat 2), hitam penuh (Isolat 3) dan hitam dengan abu-abu di dasar tabung (Isolat 4) (Gambar 1).



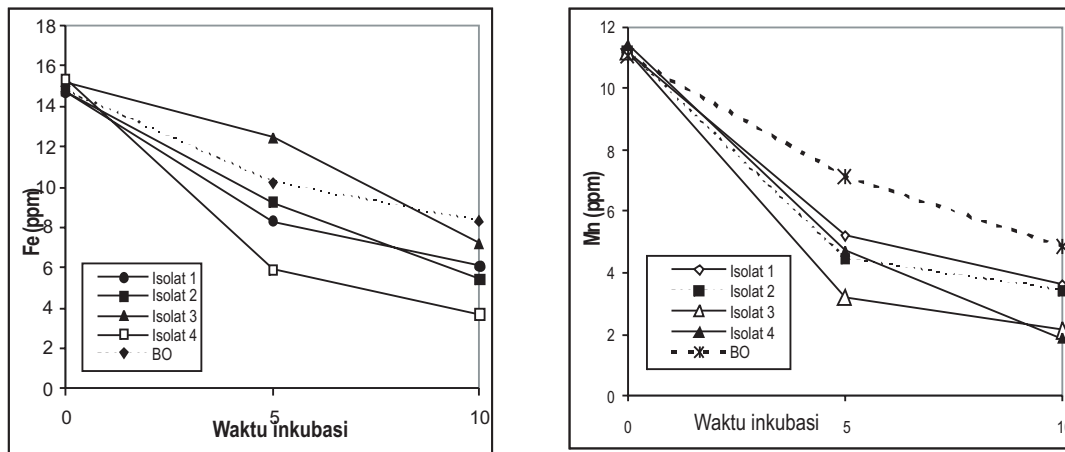
Gambar (Figure) 1. Isolat BPS yang diisolasi dari *sludge* industri kertas (*Sulfate reducing bacteria = SRB isolated from sludge of paper mills*)



Gambar (Figure) 2. Peningkatan pH (A) dan penurunan Sulfate (B) setelah aplikasi inokulum BPS (*pH(A) and sulfate(B) improvement after SRB inoculum application*)

Gambar 2 menunjukkan bahwa seluruh perlakuan, baik bahan organik maupun isolat BPS, dapat menurunkan konsentrasi sulfat (Gambar 2B), sehingga dapat meningkatkan pH air (Gambar 2A) dalam waktu 5 hari. Bahan organik dapat meningkatkan pH AAT (Gambar 2a) karena mempunyai kemampuan untuk meningkatkan atau menurunkan pH (*buffering capacity*) (Stevenson, 1994). Di samping itu, salah satu hasil mineralisasi bahan organik adalah bicarbonat, dimana bikarbonat akan mengikat ion H^+ sehingga pH akan meningkat (Bohn *et al.*, 1985). Namun demikian pada Gambar 2 dapat dilihat bahwa bahan organik hanya meningkatkan pH AAT menjadi 5 di mana nilai ini belum memenuhi baku mutu air buangan yaitu mendekati netral.

Gambar 2 menunjukkan bahwa BPS lebih efektif dalam meningkatkan pH AAT. Hal ini karena BPS lebih efektif dalam menurunkan kandungan sulfat dibandingkan bahan organik (Gambar 2 B). Sudah dijelaskan di atas bahwa sulfat merupakan asam kuat sehingga penambahan senyawa ini ke dalam lingkungan akan mempengaruhi tingkat kemasaman (pH). Makin banyak sulfat direduksi maka pH akan meningkat. Peningkatan pH karena aktivitas BPS yang mereduksi sulfat akan memberikan dampak ganda, yaitu menghasilkan H_2S dan ion bikarbonat (HCO_3^-). H_2S adalah hasil reduksi sulfat (sulfate menurun maka pH akan meningkat) dan bikarbonat berperan sebagai *buffer* yang dapat meningkatkan pH (Frank, 2000). Sehingga aktivitas BPS akan lebih cepat dalam meningkatkan pH dibandingkan bahan organik.



Gambar (Figure) 3. Penurunan Fe (A) dan Mn (B) setelah aplikasi inokulum BPS (*Decrease of Fe (A) and Mn (B) availability after SRB inoculum application*)

Gambar 3 menunjukkan bahwa semua perlakuan dapat menurunkan ketersediaan Fe dan Mn dalam AAT. Bahan organik dapat menurunkan kandungan kedua logam meskipun hasilnya tidak sebaik dengan isolat BPS. Penurunan pada perlakuan bahan organik (BO) terjadi karena BO akan membentuk kompleks atau kelasi dengan mineral logam. Pembentukan kompleks adalah reaksi antara suatu ion logam dengan ligan melalui pembagian pasangan elektron (Tan, 1993). Ion logam merupakan pasangan penerima elektron sedangkan ligan merupakan donor elektron. Pembentukan kompleks stabil dengan bahan organik ini dapat menurunkan toksisitas logam-logam (Stevenson, 1994). Sebagian besar kompleks organo-metal adalah *insoluble* sehingga dapat mencegah akumulasi logam dalam air tanah (Tan, 1993). Pembentukan kompleks tersebut mengakibatkan logam menjadi sukar larut sehingga tidak tersedia bagi tanaman atau mikroba maka dapat mengurangi dampak akumulasi logam pada rantai makanan.

Gambar 3 menunjukkan bahwa perlakuan isolat BPS dapat menurunkan kandungan Fe dan Mn lebih baik daripada perlakuan bahan organik dalam waktu 10 hari. Hal ini terjadi karena dalam aktivitasnya BPS menghasilkan H_2S yang bersifat reaktif dan akan dengan segera bereaksi dengan logam-logam membentuk senyawa logam sulfida yang sukar larut (*insoluble metal-sulphides*) (Hards and Higgins, 2004). Akibat aktivitas mikrob ini logam akan terpresipitasi sehingga kelarutan logam menjadi sangat rendah dan diharapkan konsentrasinya tidak berbahaya bagi lingkungan.

Penurunan ketersediaan logam ini juga terjadi secara kimia akibat meningkatnya pH yang terjadi adanya penambahan bahan organik dan aktivitas BPS. Meningkatnya pH akan berpengaruh terhadap menurunnya kelarutan dan ketersediaan unsur hara mikro (termasuk logam-logam) (Tan, 1993).

Pemberian isolat BPS pada air asam tambang dapat menurunkan konsentrasi Fe, Mn dan sulfat pada air tersebut dengan waktu inkubasi antara 1 - 5 hari disajikan pada Tabel 1. Tabel 1 menunjukkan bahwa Isolat 4 mempunyai efisiensi yang konsisten dalam menurunkan sulfat (90%); Fe (76%) dan Mn (78%) dalam waktu 10 hari sehingga isolat ini dipilih untuk dilakukan produksi massal dan pembuatan purwa rupa (*prototype*) produk.

Tabel (Table) 1. Efisiensi penurunan Fe, Mn dan Sulfate AAT selama masa inkubasi (*Efficiency of Fe, Mn, SO₄ reduction during the SRB inoculum application*)

Perlakuan	Fe		Mn		SO ₄	
	Hari ke-5 (%)	Hari ke-10 (%)	Hari ke-5 (%)	Hari ke-10 (%)	Hari ke-5 (%)	Hari ke-10 (%)
Isolat1	44	59	24	64	51	86
Isolat 2	38	63	43	59	23	81
Isolat3	18	53	51	63	39	74
isolat 4	62	76	49	78	32	90
BO	31	44	35	50	27	66

Dari Gambar 2 dan Gambar 3 serta Tabel 1 menunjukkan bahwa isolat 4 dipilih sebagai isolat yang paling efektif. Setelah didapatkan isolat yang bekerja efektif pada media padat selanjutnya masing-masing isolat dibiakkan pada media cair (Gambar 4 A). Setelah populasinya mencukupi kemudian dimasukkan pada media bahan organik (Gambar 4 B). Dalam media padat ini inokulum siap dalam waktu 4 - 7 hari tergantung suhu inkubasi. Artinya untuk memproduksi inokulum ini hanya memerlukan waktu selama 8 - 14 hari, yaitu 4 - 7 hari untuk perbanyak massal (pembuatan starter) dan 4 - 7 hari untuk fermentasi pada media padat. Pada penelitian ini karena proses sterilisasi menggunakan otoklaf maka untuk memudahkan meletakkan dan mengeluarkan bahan organik yang disterilkan dari dan ke dalam otoklaf, produk dibuat dalam kemasan 1 kg, 2,5 kg dan 5 kg bahan kering. Setelah dilakukan uji coba ternyata kemasan yang paling aman (tidak terjadi kontaminasi) adalah kemasan 1 kg bahan kering.

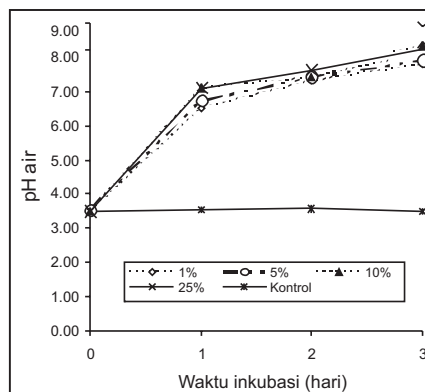
Hasil seleksi media carrier (Tabel 2) menunjukkan bahwa kompos merupakan media carrier yang paling baik untuk inokulum BPS. Bahan ini mudah disterilkan sehingga dapat menghambat terjadinya kontaminasi. Disamping itu BPS dapat tumbuh dengan baik pada media terbukti dari hasil re-isolasi menunjukkan angka survival rate mencapai 100%. Karena kompos merupakan bahan organik yang sudah mengalami mineralisasi sehingga unsur-unsur yang dibutuhkan oleh BPS sudah tersedia. Sedangkan bekatul dan serbuk gergaji masih merupakan bahan organik yang masih mentah (belum mengalami mineralisasi) karena bekatul langsung diambil dari penggilingan padi dan serbuk gergaji diambil dari penggergajian. BPS tidak mampu menggunakan bahan organik yang kompleks (Suflita *et al.*, 1997) sehingga pada penelitian ini BPS tidak dapat menggunakan glukosa (dalam bekatul) atau selulosa (dalam serbuk gergaji).



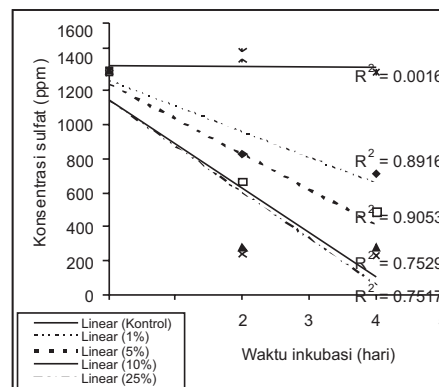
Gambar (Figure) 4. Perbanyak massal isolat BPS (A) dan contoh prototype produk inokulum BPS dengan karier bahan organik (*Mass production of SRB (A) and sample of prototype product of SRB inoculum in organic matter carrier*)

Tabel (Table) 2. Kontaminasi media carrier (%) dan survival rate (%) BPS ketika direisolasi pada media Postgate (*Percentage of contamination and survival rate after reisolation on Postgate Medium*)

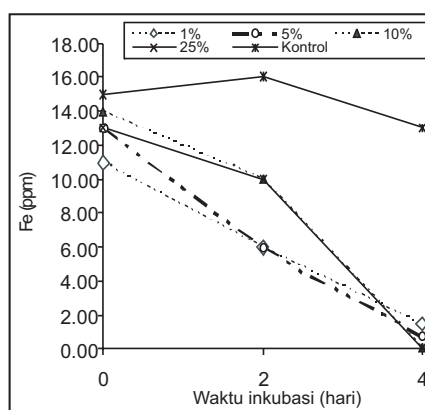
Media Carrier	Kontaminasi (<i>contamination</i>) (%)	% Survival rate
Kompos (K)	10	100
Bekatul (B)	60	0
Serbuk gergaji (S)	100	0
K:B (1:1)	20	30
K:S (1:1)	40	20
B:S (1:1)	70	0
K:B (3:1)	100	0
K:S (3:1)	100	10
B:S (3:1)	90	0
K:B (1:3)	50	30
K:S (1:3)	100	0
B:S (1:3)	40	0



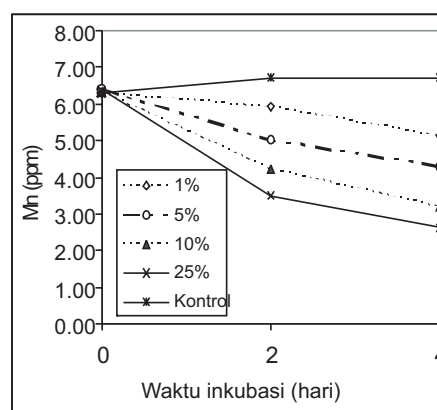
(A)



(B)



(C)



(D)

Gambar (Figure) 5. Perubahan pH (A), Sulfate (B), Fe (C) dan Mn (D) dan waktu inkubasi setelah perlakuan inoculum BPS (*pH (A), Sulfate (B), Fe (C) and Mn (D) changes after inoculating with SRB inoculum*)

Uji coba aplikasi pada skala laboratorium menunjukkan bahwa inokulum dengan dosis 1% (berat/volume) dapat meningkatkan pH AAT dalam waktu 1 hari setelah aplikasi (Gambar 5A). Dosis ini tidak berbeda nyata dengan dosis 5, 10 dan 25% (b/v), tetapi berbeda nyata apabila dibandingkan dengan kontrol. Untuk menurunkan konsentrasi sulfat yang paling efektif adalah dosis 10% dengan waktu inkubasi 4 hari (Gambar 5 B). Sedangkan untuk menurunkan Fe dan Mn berturut-turut dosis yang paling baik adalah 5% (b/v) dengan waktu inkubasi 4 hari (Gambar 5 C) dan 10% (b/v) dengan waktu inkubasi 2 hari (Gambar 5 D).

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

BPS dapat diisolasi dari limbah industri kertas dan dapat ditumbuhkan menjadi suatu formula inokulum dengan media pembawa bahan organik kompos. Isolat yang paling efektif adalah isolat 4. Dosis inokulum BPS yang diperlukan untuk meningkatkan pH adalah 1% (1 hari), menurunkan sulfat dan Mn adalah 10% sedangkan untuk menurunkan Fe adalah 5% dalam waktu 2 -4 hari.

Disarankan untuk dilakukan penelitian skala lapangan terbatas (kapasitas kolam > 500.000 liter) untuk mendapatkan dosis aplikasi yang *reasonable* secara ekonomi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Dengan terlaksananya penelitian ini disampaikan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada **PT. Indah Kiat Pulp and Paper** dan **PT. Bukit Asam** atas ijin yang diberikan untuk mendapatkan contoh AAT dan *sludge* untuk keperluan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Bohn, H.L, B.L. McNeal and G.A. O'Connor. 1985. **Soil Chemistry**. 2nd ed. John Willey&son. New York.
- Frank, F. 2000. Bioremediation by sulfate reducing bacteria of acid mine drainage. http://ist_socrates.berkeley.edu/es196/projects/final/frank.pdf, 16 Juli 2004.
- Hards, B.C. and J.P. Higgins. 2004. Bioremediation of Acid Rock Drainage Using SRB. Jacques Whit Environment Limited. Ontario.
- Soepardi, G. 1983. Sifat dan Ciri Tanah. Jurusan Tanah, Fakultas Pertanian IPB. Bogor.
- Stevenson, F.J. 1994. Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reaction. John Willey&son. New York.
- Suflita, J.M., K.L. Londry and G.A. Ulrich. 1997. Determination of Anaerobic Biodegradation Activity. In Manual of Environmental Microbiology. Hurst, C.J. (ed). ASM Press. Washington.
- Tan, K.H. 1993. *Principles of Soil Chemistry*. Marcel and Dekker. New York.
- Widyati, E. 2006. Bioremediasi Tanah Bekas Tambang Batubara dengan Sludge Industri Kertas untuk Memacu Revegetasi Lahan (Disertasi). Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.