

Pemanfaatan Bakteri Pereduksi Sulfat untuk Bioremediasi Tanah Bekas Tambang Batubara

The use of sulphate-reducing bacteria in bioremediation of ex-coal mining soil

ENNY WIDYATI

Pusat Litbang Hutan dan Konservasi Alam, Bogor 16118

Diterima: 17 Juni 2007. Disetujui: 26 September 2007.

ABSTRACT

The most serious impact after exploiting coal by opened peat mining is acid mine drainage phenomenon. This is an oxidation of sulphide minerals by releasing sulphate that generate the environment acidity. This study was aimed to observe the ability of sulphate reducing bacteria (SRB) isolated of sludge paper mills in decreasing the ex-coal mining sulphate content. Before inoculating onto the soil, SRB was incubated in the sterilized organic matter for 4 days. Organic matter inhabited SRB mix with ex-coal mining soil (1:3 v/v). As a control was a series ex-coal mining mixed with non inoculated organic matter (1:3 v/v). The experiment is carried out in randomized complete design in 3 replications, each consist of 5 buckets. All buckets were maintained in saturated water content. Every 5 days for 20 days the sulphate content, pH and Eh were assessed to observe the bioremediation progress. The result shown that SRB was able to reduce 84.25% ex-coal mining sulphate content in 20 days. In consequence, the soil pH was increased from 4.15 to 6.66 during the process. It is recommended that SRB is prospective to be further developed as a sulphate bioremediation agents on ex-coal mining soil.

© 2007 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

Key words: bioremediation, ex-coal mining, sulphate reducing bacteria

PENDAHULUAN

Indonesia memegang peranan yang sangat penting dalam industri batubara dan mineral dunia. Tahun 2005 Indonesia menduduki peringkat ke-2 sebagai negara pengekspor batubara uap. Untuk pertambangan mineral, Indonesia merupakan negara penghasil timah peringkat ke-2, tembaga peringkat ke-3, nikel peringkat ke-4 dan emas peringkat ke-8 dunia (Gautama, 2007). Namun demikian, pertambangan selalu mempunyai dua sisi yang saling berlawanan, sebagai sumber kemakmuran sekaligus merusak lingkungan yang sangat potensial. Sebagai sumber kemakmuran sudah tidak diragukan lagi bahwa sektor ini merupakan salah satu tulang punggung pendapatan negara selama bertahun-tahun. Sebagai merusak lingkungan, praktek pertambangan terbuka (*open pit mining*) yang paling banyak diterapkan pada penambangan batubara dapat mengubah iklim mikro dan tanah akibat seluruh lapisan tanah di atas deposit batubara disingkirkan.

Permasalahan yang paling berat akibat penambangan terbuka adalah terjadinya fenomena *acid mine drainage* (AMD) atau *acid rock drainage* (ARD) akibat teroksidasinya mineral bersulfur (Untung, 1993) dengan ditandai berubahnya warna air menjadi merah jingga. AMD akan memberikan serangkaian dampak yang saling berkaitan, yaitu menurunnya pH, ketersediaan dan keseimbangan unsur hara dalam tanah terganggu, serta kelarutan unsur-unsur mikro yang umumnya merupakan unsur logam meningkat (Marschner, 1995; Havlin

et al., 1999). Hasil penelitian Widyati (2006) menunjukkan bahwa kandungan sulfat pada tanah bekas tambang batubara PT. Bukit Asam di Sumatera Selatan mencapai 60.000 ppm, pH 2,8 dan kandungan logam-logam jauh di atas ambang batas untuk air bersih. Kualitas lingkungan perairan yang demikian dapat mengganggu kesehatan manusia dan kehidupan lainnya. Disamping itu, kondisi tanah yang demikian *degraded*, mengakibatkan kegiatan revegetasi memerlukan biaya yang mahal.

Dengan demikian masalah yang harus diatasi terlebih dahulu dalam mengendalikan AMD adalah memperbaiki kondisi tanah. Salah satu metode yang ramah lingkungan adalah bioremediasi, yaitu suatu proses dengan menggunakan mikroorganisme, fungi, tanaman hijau atau enzim yang dihasilkan untuk mengembalikan kondisi lingkungan dengan cara mengeliminasi kontaminan (Wikipedia, 2006). Kelompok mikrobaa yang dapat dimanfaatkan untuk memperbaiki kualitas tanah bekas tambang batubara adalah bakteri pereduksi sulfat (BPS). Dalam aktivitas metabolismenya BPS dapat mereduksi sulfat menjadi H₂S. Gas ini akan segera berikatan dengan logam-logam yang banyak terdapat pada lahan bekas tambang dan dipresipitaskan dalam bentuk logam sulfida yang reduktif (Hards and Higgins, 2004). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan BPS yang diisolasi dari limbah industri kertas untuk menurunkan kadar sulfat pada lahan bekas tambang batubara.

BAHAN DAN METODE

Bakteri pereduksi sulfat (BPS) diisolasi dari limbah industri kertas (*sludge*) PT. Indah Kiat Pulp and Paper di Riau sedangkan tanah bekas tambang batubara diambil

▼ Alamat Korespondensi:

Jl. Gunung Batu no. 5 Bogor 16118

Telp.: +62-251-633234, Fax. +62-251-633234

Email : enny_widyati@yahoo.com

dari PT. Bukit Asam di Sumatra Selatan. Bakteri diisolasi pada media Postgate (Atlas and Park, 1993) yang mengandung (g/l) Na laktat (3,5), Mg.SO₄ (2,0), NH₄Cl (0,2), KH₂PO₄ (0,5), FeSO₄ · 7 H₂O (0,5) dan Agar (16,0) dan pH 4 kemudian disterilkan pada suhu 121°C tekanan 1 atmosfer selama 15 menit. Pertumbuhan BPS ditandai dengan timbulnya koloni berwarna coklat tua sampai hitam pada dasar tabung.

Uji aktivitas bakteri pereduksi sulfat pada media Postgate cair

Isolat BPS yang digunakan pada penelitian ini merupakan hasil seleksi berdasarkan kecepatan tumbuhnya (Widyati, 2003). Komposisi isolat yang digunakan merupakan campuran 4 isolat yang berdasarkan identifikasi awal keempatnya termasuk genus *Desulfovibrio* (Widyati, 2006). Masing-masing isolat dipelihara pada media Postgate.

Masing-masing isolat murni BPS tersebut (0,25 ml) diinokulasi ke media Postgate cair yang diperkaya dengan larutan asam sulfat 2 N sebanyak 5% (v/v) jika populasi telah mencapai 10⁵ cfu/ml media. Kultur diinkubasi dalam tabung ulir volume 25 ml sampai penuh. Percobaan dilakukan dalam rancangan acak lengkap dengan 3 kali ulangan, masing-masing ulangan terdiri atas 3 tabung ulir. Setiap lima hari sampai hari kedua puluh dilakukan pengukuran sulfat. Sebagai kontrol adalah perlakuan media postgate B yang diperkaya dengan larutan asam sulfat 2 N sebanyak 5% (v/v) tetapi tidak diinokulasi dengan BPS.

Uji aktivitas bakteri pereduksi sulfat untuk bioremediasi tanah bekas tambang batubara

Komposisi bakteri yang digunakan pada percobaan ini sama dengan pada percobaan uji BPS pada media Postgate cair. Sebelum diinokulasikan pada tanah bekas tambang batubara, biakan BPS sebanyak 1% dicampurkan pada bahan organik steril kemudian diinkubasi selama 4 hari. Setelah bakteri tumbuh yang ditandai dengan terbentuknya gelembung dipermukaan bahan organik segera dimasukkan ke dalam tanah bekas tambang batubara dengan perbandingan 1 : 3 (v/v). Selanjutnya tanah ditambah dengan air steril sampai jenuh (berbentuk pasta/lumpur). Percobaan dilakukan dalam rancangan acak lengkap dengan 3 kali ulangan, masing-masing ulangan terdiri atas 5 ember. Sebagai kontrol diberikan tanah bekas tambang batubara yang diberi bahan organik steril dan dilumpurkan. Setiap 5 hari sampai hari ke-20 dilakukan pengukuran sulfat, pH dan Eh tanah. Untuk mengetahui pertumbuhan BPS setiap 5 hari selama 20 hari pada perlakuan BPS dilakukan re-isolasi pada media Postgate agar kemudian dihitung jumlah koloni yang tumbuh. Efisiensi bioremediasi dihitung untuk mengetahui berapa persen polutan yang dapat diturunkan selama perlakuan. Efisiensi dihitung dengan rumus Widyati (2006), sebagai berikut:

1. Efisiensi masing-masing perlakuan

$$\frac{(\text{konsentrasi sulfat awal}) - (\text{konsentrasi sulfat akhir})}{(\text{konsentrasi awal})} \times 100\%$$

2. Efisiensi perlakuan terhadap kontrol dihitung dengan rumus:

$$\frac{(\text{kons. sulfat akhir kontrol}) - (\text{kons. sulfat akhir perlakuan})}{(\text{konsentrasi sulfat akhir kontrol})} \times 100\%$$

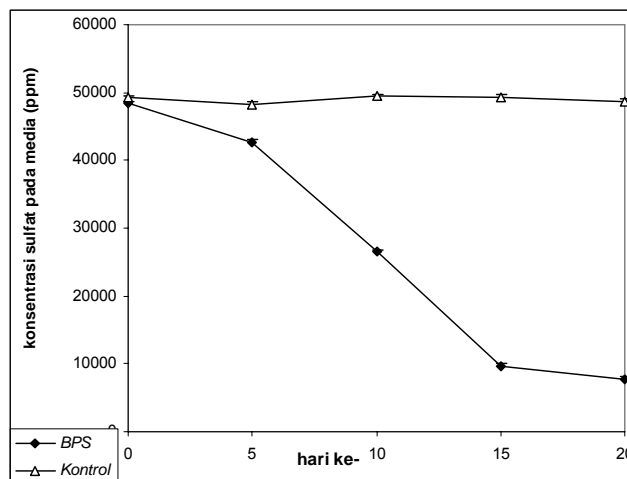
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran menunjukkan bahwa pada perlakuan yang tidak diinokulasi dengan BPS konsentrasi sulfat dalam larutan tersebut relatif tidak mengalami perubahan (Gambar 1). Sedangkan pada perlakuan yang diinokulasi dengan BPS terjadi penurunan dari konsentrasi sulfat sebesar 48.400 ppm pada hari ke-0 menjadi 9.300 ppm pada hari ke-20 setelah inkubasi. Pada percobaan ini BPS mulai menurunkan sulfat setelah hari ke-5 inkubasi.

Isolat murni BPS yang diisolasi dari limbah industri kertas dapat mereduksi sulfat yang ditambahkan ke dalam media Postgate (Gambar 1). Penurunan tersebut apabila dihitung dengan rumus efisiensi (Widyati, 2006) didapatkan nilai efisiensi sebesar 83,88%, sedangkan kontrol yang tidak diinokulasi dengan BPS hanya mengalami penurunan dengan efisiensi sebesar 0,81% dalam waktu 20 hari.

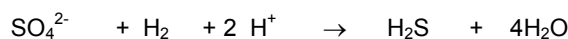
Penurunan konsentrasi sulfat pada penelitian ini karena BPS dapat menggunakan sulfat sebagai akseptor elektron untuk aktivitas metabolismenya (Higgins *et al.*, 2003). Karena sulfat menerima elektron maka senyawa ini akan mengalami reduksi menjadi sulfida sehingga konsentrasinya dalam kultur tersebut mengalami penurunan.

Ujicoba pemanfaatan BPS juga dilakukan untuk menurunkan kandungan sulfat pada tanah bekas tambang batubara. Hasil pengukuran perubahan kadar sulfat pada tanah bekas tambang batubara oleh aktivitas BPS ditunjukkan pada Gambar 2. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan bioremediasi dengan BPS dapat menurunkan konsentrasi sulfat dalam tanah bekas tambang batubara secara signifikan ($P < 0,05$), dengan efisiensi 91,28% dibanding kontrol.

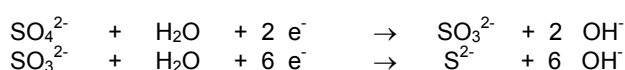


Gambar 1. Uji aktivitas BPS pada medium Postgate cair yang diperkaya dengan larutan asam sulfat 2N 5%; K: kontrol; BPS: bakteri pereduksi

Dalam melakukan reduksi sulfat, BPS menggunakan sulfat sebagai sumber energi yaitu sebagai akseptor elektron dan menggunakan bahan organik sebagai sumber karbon (C). Karbon tersebut berperan selain sebagai donor elektron dalam metabolisme juga merupakan bahan penyusun selnya (Groudev *et al.*, 2001). Sedangkan menurut Djurle (2004) BPS menggunakan donor elektron H₂ dan sumber C (CO₂) yang dapat diperoleh dari bahan organik. Reaksi reduksi sulfat oleh BPS menurut Van Houten (2003) dalam Djurle (2004) adalah sebagai berikut:



Gambar 2 menunjukkan bahwa pada perlakuan kontrol (bahan organik + penggenangan) juga mengalami penurunan. Penurunan yang terjadi pada perlakuan kontrol ini karena pada perlakuan ini ke dalam tanah bekas tambang batubara ditambahkan bahan organik dan ditambahkan air sampai jenuh. Penjenuhan air mengakibatkan tanah menjadi anaerob yang ditandai dengan perubahan potensial redoks (Eh) menjadi negatif (Gambar 3). Penurunan Eh menunjukkan adanya perubahan kondisi lingkungan dari aerob (positif) menjadi anaerob (negatif) karena oksigen yang mengisi pori-pori tanah terdesak dan digantikan oleh air. Pada kondisi anaerob bahan organik akan berperan sebagai donor elektron (Groudev *et al.*, 2001). Ketika sulfat menerima elektron dari bahan organik maka akan mengalami reduksi membentuk senyawa sulfida seperti yang digambarkan oleh Foth (1990) dalam persamaan reaksi sebagai berikut:



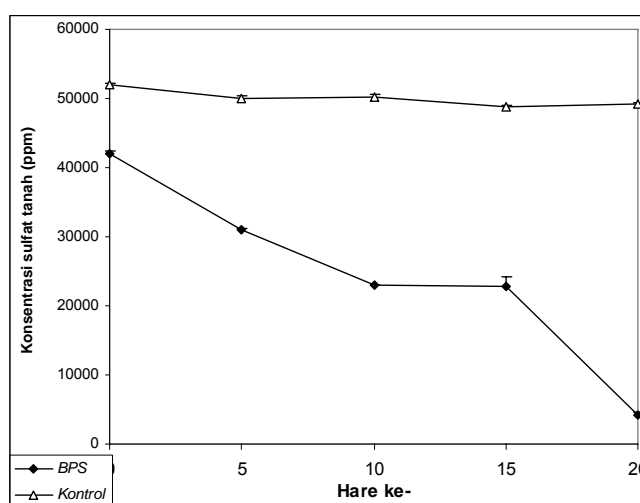
Menurunnya konsentrasi sulfat pada perlakuan kontrol terjadi karena dalam kondisi anaerob akseptor elektron yang pada kondisi aerob dilakukan oleh oksigen bebas akan digantikan oleh molekul lain (Foth, 1990), seperti nitrat dan sulfat (Foth, 1990; Groudev *et al.*, 2001). Pada penelitian ini yang berperan sebagai akseptor elektron adalah sulfat yang konsentrasinya pada tanah bekas tambang batubara berkisar antara 32.000 – 60.000 ppm (Widyati 2006).

Pada penelitian ini, penurunan konsentrasi sulfat (termasuk asam kuat) akan meningkatkan pH tanah (Gambar 4). Hal ini terjadi karena beberapa proses yang saling berkaitan, yaitu karena penggenangan, penambahan bahan organik dan aktivitas BPS. Pada proses penggenangan seperti yang ditunjukkan oleh reaksi (Foth, 1990) dilepaskan ion-ion hidroksil yang akan mengikat ion H^+ . Disamping itu peningkatan pH juga terjadi karena pemberian bahan organik. Bahan organik mempunyai *buffering capacity* sehingga dapat meningkatkan atau menurunkan pH lingkungannya (Stevenson, 1994).

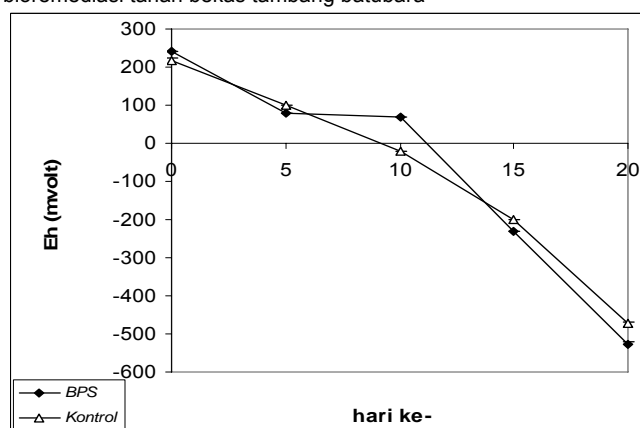
Apabila dibandingkan antara perlakuan kontrol dengan perlakuan BPS, meskipun kedua perlakuan memberikan suasana anaerob yang tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) (Gambar 3), tetapi memberikan hasil yang berbeda nyata dalam menurunkan sulfat dan meningkatkan pH tanah bekas tambang batubara. Perlakuan BPS menurunkan sulfat dan meningkatkan pH secara signifikan sedangkan perlakuan kontrol tidak. Perlakuan BPS dapat mereduksi sulfat tanah $>80\%$ (Gambar 2) sehingga dapat meningkatkan pH mendekati netral (Gambar 5). Hal ini menunjukkan bahwa reaksi reduksi sulfat yang dikatalis oleh BPS lebih efisien daripada proses reduksi secara kimia karena penjenuhan dan penambahan bahan organik. Namun demikian, penambahan bahan organik dan penjenuhan tetap diperlukan karena menurut Alexander (1977) bahwa reaksi reduksi sulfat oleh BPS menjadi sulfida dapat ditingkatkan melalui penambahan kadar air dan penambahan bahan organik tanah. Proses ini memerlukan Eh yang rendah (anaerob) dan umumnya dibatasi oleh pH di atas 6.

Untuk menguji apakah BPS yang diinokulasikan dapat hidup dan berperan aktif dalam proses bioremediasi tanah bekas tambang batubara, maka setiap 5 hari selama 20 hari dilakukan re-isolasi BPS. Hasil re-isolasi ditunjukkan pada Gambar 5, dimana BPS yang diinokulasikan dapat tumbuh dengan baik, sehingga pada hari ke-15 jumlahnya

meningkat 195 kali lipat. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Alexander (1977), bahwa ketika terjadi defisiensi O_2 karena penggenangan (*flooding*) maka akan meningkatkan populasi BPS ribuan kali lipat dalam waktu kurang lebih 2 minggu. Populasi mikroba ini berkembang menjadi 23.000% dalam waktu 20 hari. Dalam tanah bekas tambang batubara banyak mengandung sulfat yang sangat diperlukan oleh BPS sebagai sumber energi untuk menerima elektron selama aktivitas metabolik dalam selnya. Karena menurut Hards and Higgins (2004), bahwa BPS dalam hidupnya memerlukan sulfat sebagai akseptor elektron dan bahan organik sebagai sumber C. Sehingga ketika mereka dimasukkan ke dalam lingkungan tanah bekas tambang batubara yang banyak mengandung sulfat, sudah barang tentu dapat meningkatkan aktivitas metaboliknya dan mengakibatkan populasinya berkembang baik.



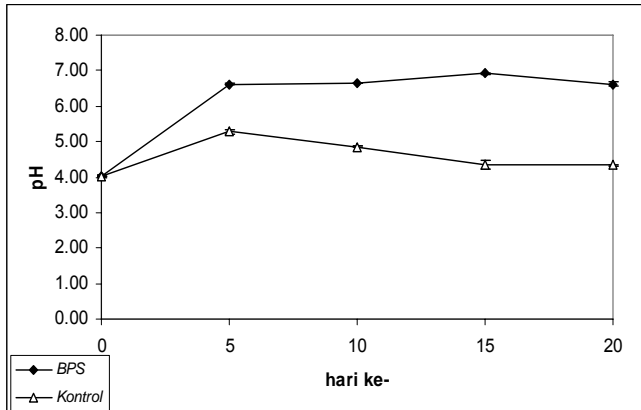
Gambar 2. Perubahan konsentrasi sulfat selama proses bioremediasi tanah bekas tambang batubara



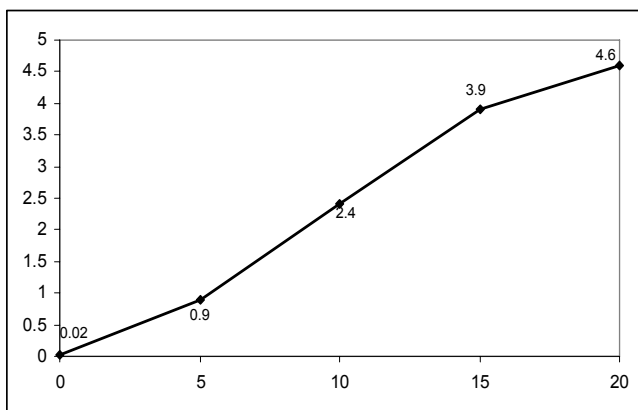
Gambar 3. Perubahan potensial redoks (Eh) tanah bekas tambang batubara selama proses bioremediasi

Menurut Alexander (1977) BPS terdiri dari 2 genus, yaitu *Desulfovibrio* dan *Desulfotomaculum*. *Desulfovibrio* hidup pada kisaran pH 6 sampai netral, sedangkan *Desulfotomaculum* merupakan kelompok BPS yang termofil (menyukai suhu yang tinggi). Dari hasil penelitian lingkungan tanah bekas tambang batubara setelah diberi perlakuan bioremediasi mempunyai pH sekitar 6 (Gambar 5) dan suhunya berkisar pada suhu ruangan ($25^\circ\text{C} - 30^\circ\text{C}$) tidak termofil ($>55^\circ\text{C}$) sehingga kuat dugaan bahwa BPS

yang ditemukan sangat dekat sifat-sifatnya dengan genus *Desulfovibrio*. Sedangkan menurut Feio *et al.* (1998) media Postgate yang digunakan merupakan media selektif yang paling cocok untuk mengisolasi BPS dari genus *Desulfovibrio*.



Gambar 4. Perubahan pH tanah bekas tambang batubara selama proses bioremediasi



Gambar 5. Pertumbuhan BPS setelah diinokulasikan pada tanah bekas tambang batubara; spk : satuan pembentuk koloni

Kemampuan BPS dalam menurunkan kandungan sulfat sehingga dapat meningkatkan pH tanah bekas tambang batubara ini sangat bermanfaat pada kegiatan rehabilitasi lahan bekas tambang batubara. Peningkatan pH yang dicapai hampir mendekati netral (6,66) sehingga sangat baik untuk mendukung pertumbuhan tanaman revegetasi maupun kehidupan biota lainnya.

KESIMPULAN

Bakteri pereduksi sulfat (BPS) efektif digunakan dalam proses bioremediasi tanah bekas tambang batubara dengan waktu inkubasi 20 hari. Aktivitas BPS dapat menurunkan konsentrasi sulfat pada tanah bekas tambang batubara dengan efisiensi 89,76% dalam waktu inkubasi 20 hari. Penurunan sulfat tersebut dapat meningkatkan pH tanah bekas tambang batubara dari 4,15 menjadi 6,66 dalam waktu yang sama. Nilai pH tersebut merupakan pH yang ideal untuk pertumbuhan sebagian besar tanaman, sehingga bioremediasi tanah dengan BPS akan sangat membantu kegiatan rehabilitasi lahan bekas tambang batubara.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, M. 1977. **Introduction to Soil Microbiology**. 2nd ed. John Wiley & Son. New York
- Atlas, M.R. and L.C. Parks. 1993. **Handbook of Microbiological Media**. CRC Press. Boca Raton.
- Djurle, C. 2004. **Development of a Model for Simulation of Biological Sulphate Reduction with Hydrogen as Energy Source**. Master Thesis. Department of Chemical Engineering. Lund Institute of Technology. The Netherlands.
- Feio, M.J., H.B. Beech, M. Carepo, J.M. Lopes, C.W.S. Cheung, R. Franco, J. Guezennec, J.R. Smith, J.I. Mitchell, J.J.G. Moura and A.R. Lino. 1998. Isolation and characterization of a novel sulphate-reducing bacterium of the *Desulfovibrio* genus. *Anaerobe* (4): 117 – 130.
- Foth, H.D. 1990. **Fundamentals of Soil Science**. 8th ed. John Wiley & son. New York.
- Gautama RS. 2007. Pidato Guru Besar ITB: Pengelolaan air asam tambang: aspek penting menuju pertambangan berwawasan lingkungan. www.itb.ac.id/favicon.ico [20 Mei 2007]
- Groudev, S.N., K. Komnitsas, I.I. Spasova and I. Paspaliaris. 2001. Treatment of AMD by a natural wetland. *Minerals Engineering* 12: 261-270.
- Hards, B.C. and J.P. Higgins. 2004. **Bioremediation of Acid Rock Drainage Using SRB**. Jacques Whit Environment Limited. Ontario.
- Havlin, J.L., J.B. Beaton, S.L. Tisdale SL and W.L. Nelson. 1999. **Soil Fertility and Fertilizers. An Introduction to Nutrient Management**. Prentice Hall. New Jersey.
- Higgins, J.P., B.C. Hards and A.I. Mattes. 2003. Bioremediation of Acid Rock Drainage Using Sulfate Reducing Bacteria. www.Jacqueswhitford.com/site_jw/media/1_4SC_sudburypapers2003mayHiggins10_8_pdf [16 Juli 2004]
- Marschner, H. 1995. **Mineral Nutrition of Higher Plants**. 2nd ed. Academic Press. London.
- Stevenson F.J. 1994. **Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reaction**. John Wiley & son. New York.
- Untung, S.R. 1993. **Dampak Air Asam Tambang dan Upaya Pengelolaannya**. Pusat Penelitian Tambang Batubara dan Mineral. Bandung (Tidak dipublikasikan).
- Widyati, E. 2003. Isolasi dan seleksi bakteri pengasimilasi sulfur. Laporan tahunan Pusat Litbang Hutan dan Konservasi Alam. Tidak dipublikasikan.
- Widyati, E. 2006. **Bioremediasi Tanah Bekas tambang Batubara dengan Sludge Industri Kertas untuk Memacu Revegetasi Lahan**. Disertasi Doktor. Sekolah Pascasarjana IPB. Bogor
- www.wikimedia.com.thefreeencyclopedia/bioremediation.htm. Bioremediation. [18 Juni 2006]