

PENGARUH MUTASI TERHADAP AKTIVITAS BIOLEACHING MANGAN BAKTERI PENGOKSIDASI SULFUR

Effects of Mutation on Manganese Bioleaching Activities of Sulphur-Oxidizing Bacteria

MUHAMMAD ZULFIKRIE^{1**}, WAHYU WILOPO^{2**}, I WAYAN WARMADA^{2**} dan ENDAH RETNANINGRUM^{3*}

¹ Magister Biologi, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada

Jl. Teknika Selatan Sekip Utara, Sleman, Yogyakarta, Indonesia 55281.

² Departemen Geologi, Fakultas Teknik, Universitas Gadjah Mada,

Jl. Grafika No. 2, Bulaksumur, Sleman, Yogyakarta, Indonesia 55281.

³ Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada

Jl. Teknika Selatan Sekip Utara, Sleman, Yogyakarta, Indonesia 55281.

Korespondensi e-mail: endahr@ugm.ac.id

* Kontributor Utama ** Kontributor Anggota

ABSTRAK

Mangan merupakan jenis logam berat yang banyak digunakan dalam aktivitas manusia. Saat ini teknologi *bioleaching* menjadi alternatif dalam penambangan mangan karena dinilai lebih efektif dan ramah lingkungan. Kelompok bakteri pengoksidasi sulfur diketahui berpotensi dalam melakukan *bioleaching* mangan. Bakteri pengoksidasi sulfur dengan kode isolat MN1E telah berhasil diperoleh dari sumber air panas di Candi Gedong Songo, Semarang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh mutasi sinar ultraviolet (UV), sodium nitrit (NaNO₂), dan dietil sulfat (DES), serta kombinasinya dengan berbagai waktu paparan (5, 10, 15 menit) terhadap kemampuan *bioleaching* mangan dan ketahanan terhadap H₂O₂ dari isolat MN1E tersebut. Kemampuan *bioleaching* mangan diukur menggunakan metode *Atomic Absorption Spectrophotometry* (AAS) selama 18 hari. Aktivitas *bioleaching* mangan tertinggi dilakukan oleh isolat mutan N₅ dan D₁₀ pada hari ke-18 dengan nilai persentase pelarutan masing-masing sebesar 14,22% dan 14,09%. Isolat mutan N₅ memiliki ketahanan paling baik terhadap paparan H₂O₂. Isolat MN1E teridentifikasi sebagai anggota spesies *Staphylococcus pasteurii* dan potensial untuk diaplikasikan pada proses penambangan bijih mangan.

Kata kunci: dietil sulfat, sodium nitrit, *Staphylococcus pasteurii*, ultraviolet.

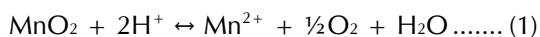
ABSTRACT

Manganese is an essential heavy metal for human activities. Bioleaching became an alternative technology for manganese exploration, because it is claimed to be more effective and eco-friendly. Sulphur-oxidizing bacteria are potential in manganese bioleaching. A sulphur-oxidizing bacterium with code name MN1E had been isolated from Gedong Songo temple hot springs, Semarang. In this research, the mutation effect of ultra violet rays (UV), sodium nitrite (NaNO₂), diethyl sulphate (DES), and their combination with variation time exposures on manganese bioleaching activities were studied. Manganese bioleaching activities were measured by Atomic Absorption Spectrophotometry (AAS) method in 18 days. The highest bioleaching activities was found in 18th day by N₅ and D₁₀ mutant isolates with manganese recovery scores of 14,22% and 14,09%. N₅ mutant isolate had highest survival rate from H₂O₂ exposure. MN1E isolate was identified as *Staphylococcus pasteurii* species and potential to be applied to the manganese ore mining process.

Keywords: diethyl sulfate, sodium nitrite, *Staphylococcus pasteurii*, ultraviolet.

PENDAHULUAN

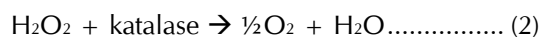
Logam mangan (Mn) merupakan salah satu komoditas yang banyak digunakan pada aktivitas kehidupan manusia sebagai komponen alat-alat elektronik, batu baterai, pelapis besi, makanan, serta peralatan medis (Bal, Ghosh dan Das, 2019). Logam mangan di alam ditemukan dalam bentuk terikat pada mineral kompleks seperti mangan dioksida (MnO_2) atau *pyrolusite* (Ghosh dkk., 2016). Proses eksplorasi mangan secara konvensional dinilai berpotensi melepaskan bijih mangan tingkat rendah (*low-grade ores*) dan residu tambang lainnya. Residu tersebut berpotensi melepaskan logam berat mangan ke lingkungan yang berpotensi merusak ekosistem di sekitarnya, maka diperlukan teknologi pengolahan residu ini. Saat ini dikembangkan penambangan logam secara biologis (*biomining*) dengan mikroorganisme sebagai salah satu agen utamanya. Salah satu metode dari *biomining* adalah *bioleaching*, yaitu proses perubahan logam tidak terlarut menjadi bentuk terlarutnya (Barboza, Guerra-Sá dan Leão, 2016). Proses *bioleaching* mangan oleh mikroorganisme terjadi melalui perubahan Mn(IV) yang tidak terlarut dan terikat pada mineral menjadi Mn(II) yang terlarut dengan reaksi sebagai berikut (Bal, Ghosh dan Das, 2019):



Mikroorganisme heterotrof dan/atau kemolitotrof umumnya digunakan pada proses *bioleaching* logam (Ghosh dan Das, 2018; Retnaningrum dan Wilopo, 2019). Mikroorganisme tersebut melakukan reaksi redoks aktif pada bijih logam untuk pemanenan elektron yang akan digunakan dalam pembentukan energi serta menggunakan CO_2 dan asam organik sebagai sumber karbonnya (Mohanty dkk., 2018). Kelompok mikroorganisme pengoksidasi sulfur merupakan salah satu kelompok mikroorganisme yang termasuk di dalamnya dan dapat ditemukan pada daerah-daerah mengandung sulfur tinggi (Prasidya dkk., 2019). Sumber air panas di candi Gedong Songo, Semarang, Jawa Tengah mempunyai konsentrasi sulfat cukup tinggi (Kusumaningrum dkk., 2020).

Proses *bioleaching* tidak lepas dari stres logam yang diterima oleh mikroorganisme yang terlibat di dalamnya. Beberapa penelitian telah

mempelajari adanya berbagai respon mikroorganisme terhadap kondisi tersebut (Cárdenas dkk., 2012; Travisany dkk., 2014; Wu dkk., 2020). Salah satunya adalah stres oksidatif yang muncul akibat proses reaksi aktif reduksi-oksidasi (redoks). Proses redoks aktif ini berpotensi melepaskan ROS (*reactive oxygen species*) seperti superoksida ($-\text{O}_2$) dan hidrogen peroksida (H_2O_2). Senyawa ROS tersebut terbentuk akibat reduksi parsial selama metabolisme. Senyawa ini bersifat radikal dan dapat merusak struktur makromolekul di dalam sel seperti lipid, asam nukleat, lipid, protein dan lain sebagainya sehingga menyebabkan tekanan oksidatif terhadap sel (Wu dkk., 2020). Beberapa mikroorganisme dapat merespon tekanan oksidatif melalui reaksi enzimatik dan non-enzimatik. Salah satu respon tersebut adalah mengekspresikan enzim katalase yang mengurangi sifat radikal dari hidrogen peroksida dengan merubahnya menjadi oksigen dan air. Reaksi kimianya sebagai berikut (Marinho dkk., 2014):



Mutasi dapat terjadi akibat kesalahan dalam metabolisme genetik ataupun dipicu oleh agen penyebab mutasi (mutagen). Mutasi yang disebabkan oleh mutagen dapat terjadi melalui paparan bahan kimia reaktif seperti sodium nitrit (NaNO_2) dan dietil sulfat ($\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}_4\text{S}$) yang dapat bereaksi dengan DNA ataupun protein penting dalam regulasi materi genetik (Huang dkk., 2021). Selain bahan kimia, paparan fisik seperti sinar UV, gelombang mikro (*microwave*), dan gelombang ultrasonik juga dapat menyebabkan mutasi (Yuan dkk., 2013; Urry dkk., 2017). Paparan fisik tersebut menyebabkan ketidakstabilan molekul yang terdapat di dalam sel, tidak terkecuali asam nukleat dan protein sebagai penyusun informasi genetik mikroorganisme.

Dong dkk. (2019) melakukan pengujian pengaruh mutasi dengan *atmospheric and room-temperature plasma* (ARTP) terhadap kemampuan *bioleaching* *Bacillus mucilaginosus* BM-50. Bakteri mutan tersebut meningkatkan *bioleaching* vanadium sebesar 68,3%. Nasiri dkk., (2021) juga melaporkan mutasi *Acidithiobacillus ferrooxidans* sp. FJ2 dengan radiasi sinar gama dapat meningkatkan ekspresi gen yang terlibat dalam proses *bioleaching* uranium.

Pada penelitian ini, dilakukan uji pengaruh mutasi kimia dan fisik serta kombinasinya terhadap kemampuan *bioleaching* mangan oleh bakteri pengoksidasi sulfur yang diperoleh dari sumber air panas di candi Gedong Songo, Semarang. Juga dipelajari pengaruhnya terhadap ketahanan paparan senyawa hidrogen peroksida. Selain itu, juga dilakukan identifikasi isolat secara fenotipik.

METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Sampel mikroorganisme dicuplik dari sumber air panas di candi Gedong Songo, Semarang, Jawa Tengah (-7.2030781, 110.3393472). Deposit bijih mangan diperoleh dari Laboratorium Bahan Galian, Departemen Geologi, Fakultas Teknik Universitas Gadjah Mada. Sampel bijih mangan mengandung 25% Mn, 30,4% Fe, dan 34% S (Retnaningrum dan Wilopo, 2019). Bijih digerus hingga berukuran 0,125 – 0,16 mm. Sampel mikroorganisme ditumbuhkan pada media pertumbuhan Fe9K yang dibuat dengan mencampurkan media 9K yang mengandung (L^{-1}) 4.25 g $(NH_4)_2SO_4$, 0.14 g KCl, 0.07 g K_2HPO_4 , 0.7 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, dan 0.02 g $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ ditambahkan dengan 3 g/L $FeSO_4 \cdot 7H_2O$. pH medium diatur hingga menjadi 6.0 dengan larutan 10N H_2SO_4 (Zhao dkk., 2022). Keduanya disterilisasi pada wadah yang terpisah. Kultur diinkubasi pada suhu ruang, 180 rpm. Penggantian media dilakukan setiap 2 minggu.

Metode mutasi dilakukan dengan mengadopsi metode Yuan dkk. (2013), dengan cara memanen sebanyak 1 mL sel kultur isolat *wild type* dengan kode MN1E dikonsentratkan menggunakan *centrifuge* (Hettich Zentrifugen 320R) pada kecepatan 24.000 g selama 20 menit. Supernatan dibuang dan pelet diresuspensi menggunakan larutan fisiologis hingga jumlah selnya 10^8 CFU/mL. Mutasi menggunakan sinar UV dengan cara memberikan paparan sinar lampu UV ke suspensi kultur pada petridish steril dengan tenaga 15 W, panjang gelombang 548 nm, pada jarak 30 cm. Kemudian setelah mutasi, isolat dipindahkan ke dalam suhu 4°C selama 12 jam. Mutasi dengan bahan kimia sodium nitrit ($NaNO_2$) diberikan dengan menambahkan 0,1

mol/L $NaNO_2$ ke suspensi sel dalam larutan buffer asam asetat pH 4,6. Proses mutasi dihentikan dengan menambahkan 0,07 mol/L Na_2HPO_4 (pH 8,6) (Han dkk., 2020). Mutasi dengan dietil sulfat (DES) diberikan dengan menambahkan 1% DES ke suspensi kultur, kemudian dihentikan dengan menambahkan 25% sodium tiosulfat ($Na_2S_2O_3$) (Li dkk., 2015). Perlakuan mutasi kombinasi dilakukan penggabungan dari dua dan tiga perlakuan mutasi dengan waktu paparan sama. Paparan mutagen diberikan dalam waktu 5, 10, dan 15 menit. Waktu paparan yang optimal digunakan adalah waktu paparan yang dapat ditoleransi oleh isolat uji.

Skrling isolat mutan dilakukan dengan menumbuhkan sebanyak 5% (v/v) kultur dengan jumlah sel 10^8 CFU/mL pada erlenmeyer berisi 100 mL medium 9K yang ditambahkan 0,1% MnO_2 . Kultur kemudian diinkubasi pada kecepatan 180 rpm selama 10 hari pada suhu ruang. Selanjutnya dilakukan pengukuran jumlah sel pada hari ke 10 menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Thermo Scientific Genesys) pada panjang gelombang 600 nm. Mutan dengan pertumbuhan tertinggi dan terendah dipilih sebagai isolat uji.

Uji *bioleaching* mangan dilakukan dengan menumbuhkan sebanyak 5% (v/v) kultur dengan jumlah sel 10^8 CFU/mL pada erlenmeyer berisi 100 mL medium 9K yang ditambahkan 1% MnO_2 . Kultur kemudian diinkubasi pada kecepatan 180 rpm selama 18 hari pada suhu ruang. Isolat kemudian dicuplik secara berkala pada hari ke-1, 6, 12, dan 18 untuk pengukuran pertumbuhan isolat dengan spektrofotometri pada 600 nm, pH, dan konsentrasi mangan terlarut dengan dengan *Atomic Absorption Spectrophotometer* (AAS ContAA 300 Jena).

Pengukuran ketahanan terhadap hidrogen peroksida (H_2O_2) dilakukan dengan memberikan paparan senyawa tersebut dengan variasi konsentrasi terhadap isolat pada fase eksponensial akhir dengan jumlah sel uji sekitar 10^8 CFU/mL. Isolat bakteri dan H_2O_2 dipindah ke *microplate* dengan perbandingan 1:1. Konsentrasi akhir H_2O_2 adalah 0%, 1%, dan 3%, kemudian diinkubasi selama sekitar 3 jam tanpa cahaya. Jumlah sel akhir isolat bakteri diukur menggunakan ELISA reader

(Bioteck ELx800) pada panjang gelombang 595 nm. Keseluruhan pengujian dilakukan sebanyak 3 kali ulangan.

Karakter morfologis isolat dilakukan dengan mengamati karakter koloni, sel, serta biokimia. Pewarnaan sel dilakukan dengan pengecatan gram bertingkat dan diamati di bawah mikroskop (Binokuler Boeco BM-180) pada perbesaran 1.000×. Identifikasi secara fenotipik dilakukan dengan mencocokkan karakter isolat dengan karakter pada buku *Bergey's Manual of Systematic Microbiology* (Brenner, Krieg dan Staley, 2005).

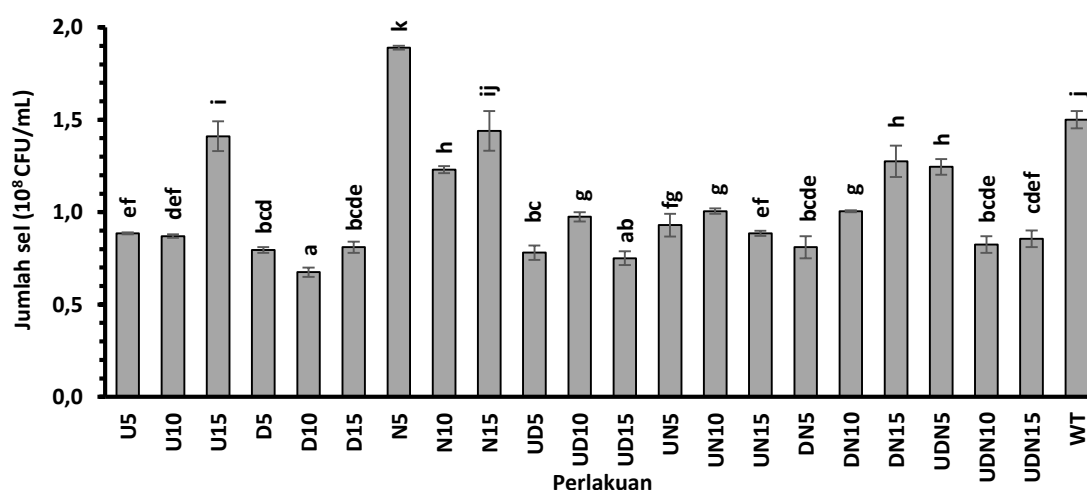
Data hasil pengukuran berupa rerata, standar deviasi, dan variasi dianalisis menggunakan aplikasi SPSS v.21.0. Perbedaan antar hasil dianalisis menggunakan ANOVA dengan taraf signifikansi $p < 0,05$. Signifikansi antar perlakuan dianalisis menggunakan analisis *Duncan Multiple Range Test* (DMRT).

HASIL DAN PEMBAHASAN

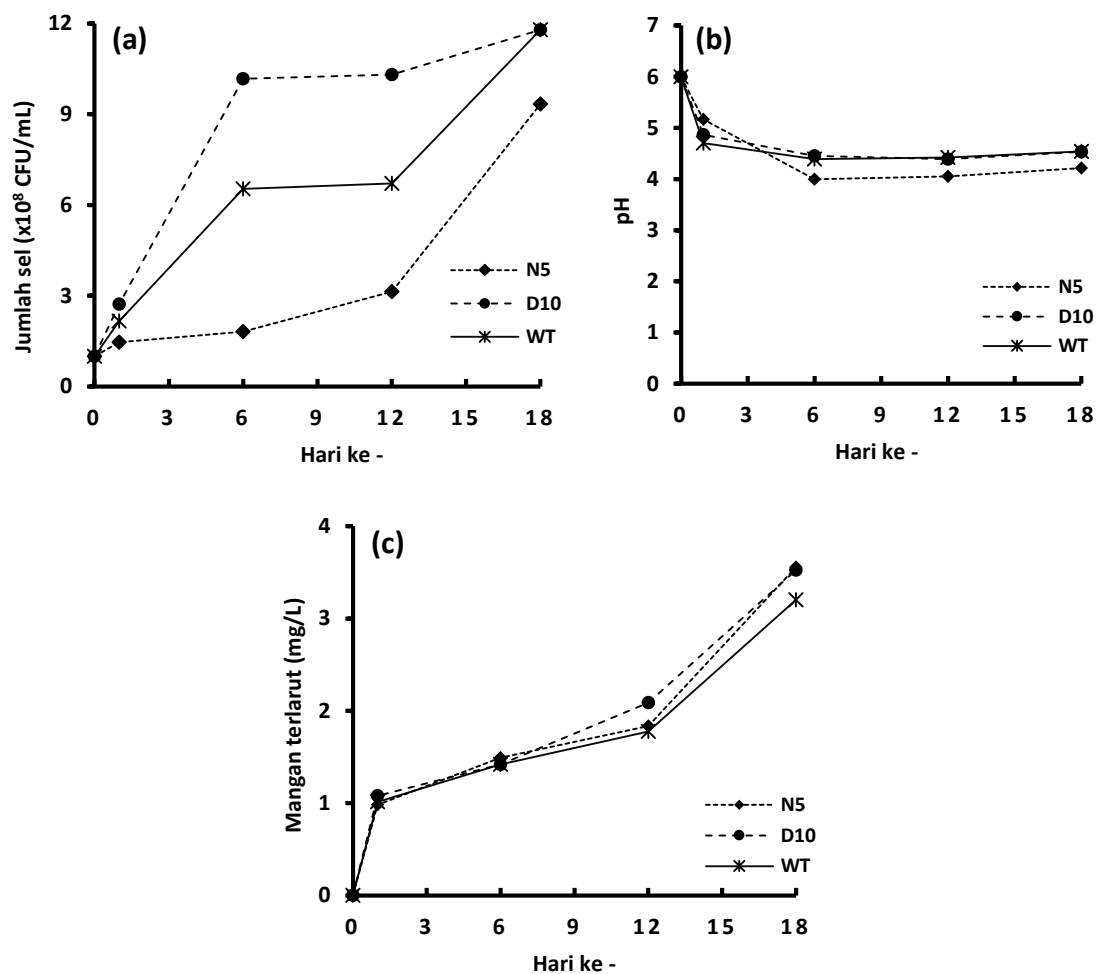
Berdasarkan hasil penelitian, seluruh isolat mutan toleran dan dapat tumbuh pada media dengan kemampuan tumbuh bervariasi (Gambar 1). Kemampuan tumbuh tersebut berkaitan dengan keseimbangan metabolisme

bakteri dalam merespon stres dan pemanenan energi dari bijih mangan. Gangguan mutagen menyebabkan keseimbangan metabolisme sel bakteri terganggu. Pada penelitian ini tidak diketahui secara spesifik perubahan jenis metabolisme yang terbentuk selama proses *bioleaching* mangan, karena mutasi yang dilakukan merupakan jenis mutasi acak. Namun, berdasarkan hasil uji statistik, pemberian mutagen diketahui memberikan pengaruh terhadap kemampuan tumbuh dari isolat MN1E pada media dengan konsentrasi bijih mangan 0,1%.

Kanakdande, Khobragade dan Mane, (2021) melaporkan hasil penelitian serupa mendapatkan strain bakteri unggul *Bacillus amyloliquefaciens* MF 510169 pengakumulasi lemak dengan metode mutasi acak menggunakan sinar ultraviolet panjang gelombang 254 nm dengan dosis 81.28KJ/m² selama 320 detik. Gen yang terlibat dalam jalur biosintesis produksi lemak strain bakteri unggul tersebut juga belum diketahui. Karakterisasi gen tersebut dapat diketahui lebih lanjut dengan analisis *whole genome sequencing*. Penelitian ini sangat bermanfaat bagi pengembangan isolat bakteri yang diperoleh dari penelitian ini untuk ekstraksi logam pada industri penambangan.



Gambar 1. Jumlah sel isolat MN1E dengan dan tanpa mutasi pada hari ke-10 proses skrining pada media 9K + 0,1% MnO₂. U: UV, N: NaNO₂, D: DES, UN: UV + NaNO₂, UD: UV + DES, DN: DES + NaNO₂, UDN: UV + DES + NaNO₂, WT: *wild-type*. 5-15: waktu paparan (menit). Uji Duncan $p < 0,05$.



Gambar 2. Aktivitas *bioleaching* mangan isolat mutan MN1E yang ditumbuhkan pada media 9K + 1% MnO_2 selama 18 hari inkubasi. (a) pertumbuhan sel; (b) pH medium; dan (c) konsentrasi mangan terlarut

Isolat mutan hasil paparan mutagen NaNO_2 selama 5 menit (N_5) memiliki kemampuan pertumbuhan tertinggi bahkan jika dibandingkan dengan isolat kontrol *wild-type* (WT). Sebaliknya, isolat mutan hasil paparan dietil sulfat (DES) selama 10 menit (D_{10}) memiliki kemampuan tumbuh yang paling rendah. Hasil analisis statistik menunjukkan nilai pertumbuhan isolat N_5 dan D_{10} pada hari ke-10 memiliki beda nyata dengan isolat kontrol (*wild-type*), sehingga kedua isolat tersebut dipilih untuk uji aktivitas *bioleaching* mangan. Hasil pertumbuhan yang berbeda ditunjukkan oleh isolat mutan pada tahap uji *bioleaching* mangan (Gambar 2a). Isolat mutan D_{10} yang semula memiliki kemampuan tumbuh rendah pada proses skrining, menjadi isolat dengan pertumbuhan tinggi. Hal ini diduga disebabkan karena perbedaan kemampuan isolat mutan

dalam merespon perubahan lingkungan. Faktor tersebut dapat mempengaruhi efektivitas pertumbuhan selama proses *bioleaching* mangan dari masing-masing isolat. Kemampuan bakteri pelarut logam dapat dipengaruhi oleh ekspresi sebagai respon terhadap stres logam, namun kemampuan ini dapat meningkat seiring waktu adaptasi yang berulang. Stres logam juga dapat mempengaruhi ekspresi dan konformasi struktur protein dalam metabolisme sel bakteri (Ghosh dan Das, 2017).

Selama proses uji *bioleaching* mangan pH media berubah dari pH 6.0 (netral) menjadi pH 4,0 (asam) dan stabil hingga akhir inkubasi (Gambar 2b). Perubahan pH media diakibatkan karena adanya pelepasan asam organik selama proses pelarutan mangan oleh bakteri. Bakteri pengoksidasi sulfur menggunakan sulfur sebagai

aseptor proton menjadi asam organik serta mengoksidasi besi sehingga melarutkan logam. Nilai pH yang cenderung stagnan disebabkan karena kultur yang digunakan merupakan kultur tunggal, sehingga kultur mempertahankan pH media dan tidak terjadi dinamika metabolisme yang fluktuatif seperti halnya yang terjadi pada kultur konsorsium atau kultur pada alam bebas. Nilai pH cenderung stabil menandakan bahwa kadar asam tersebut merupakan kondisi yang optimal bagi isolat MN1E untuk melakukan *bioleaching* mangan.

Konsentrasi mangan terlarut diukur dengan tujuan mengetahui seberapa besar kemampuan bakteri dalam melakukan pemanenan energi dengan melepaskan mangan dari kompleks mineralnya. Jumlah mangan terlarut yang dihasilkan isolat aktivitas *bioleaching* isolat mutan terus mengalami kenaikan hingga akhir inkubasi. Hal ini menunjukkan potensi bahwa isolat MN1E dapat melakukan aktivitas *bioleaching* mangan dengan waktu inkubasi yang lebih lama dari 18 hari dengan kondisi inkubasi sama. Berdasarkan analisis statistik, mutasi dan waktu inkubasi terhadap isolat MN1E berpengaruh terhadap kemampuan pelarutan mangan isolat tersebut.

Kemampuan lain yang juga berkaitan dengan proses *bioleaching* adalah ketahanan bakteri terhadap *Reactive Oxygen Species* (ROS). Kelompok ROS merupakan senyawa yang bersifat toksik bagi sel bakteri dan terbentuk selama proses *bioleaching* logam, salah satunya adalah hidrogen peroksida (H_2O_2). Karena itu konsentrasi H_2O_2 pada media selama aktivitas *bioleaching* mangan berlangsung akan terus meningkat dan mempengaruhi pertumbuhan sel.

Pada penelitian ini telah diukur kemampuan hidup isolat MN1E mutan terhadap paparan berbagai konsentrasi H_2O_2 . Berdasarkan hasil uji paparan H_2O_2 (Tabel 1), isolat mutan N_5 memiliki ketahanan tertinggi terhadap paparan H_2O_2 dengan tingkat kematian paling rendah pada konsentrasi H_2O_2 1% dan 3% yaitu masing-masing sebesar 7,50% dan 17,50%. Sedangkan ketahanan isolat mutan D_{10} tidak memiliki beda nyata dengan isolat *wild-type* pada taraf signifikansi 1%. Hal ini menunjukkan bahwa hasil mutasi $NaNO_2$ pada waktu 5 menit mampu memberikan pengaruh peningkatan ketahanan terhadap paparan H_2O_2 pada isolat MN1E.

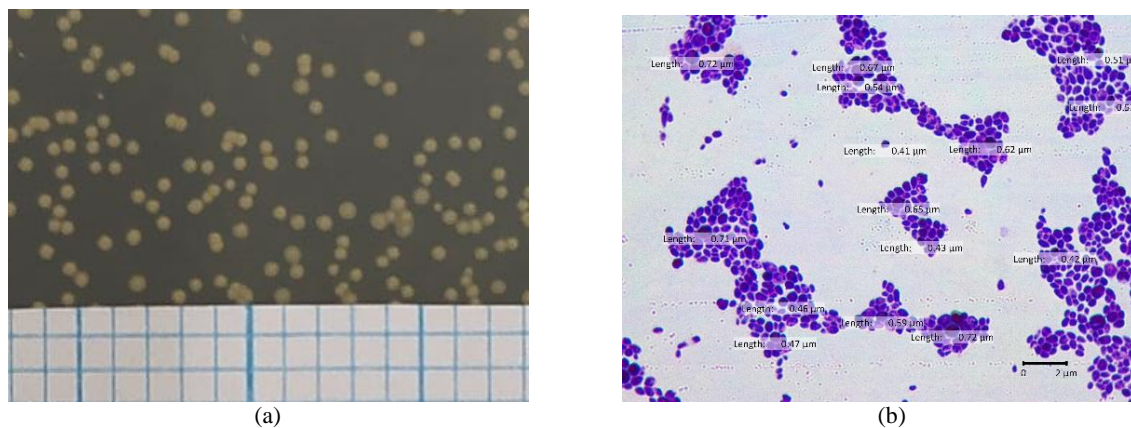
Tabel 1. Ketahanan isolat setelah dipapar berbagai konsentrasi H_2O_2 dengan waktu inkubasi 3 jam

No	Isolat	Konsentrasi H_2O_2 (%)	Persentase Hidup (%)
1	N_5^a	0	100
		1	92,50
		3	82,50
2	D_{10}^b	0	100
		1	69,93
		3	66,47
3	WT ^b	0	100
		1	66,47
		3	62,95

^{a,b)} uji Duncan $p < 0,01$

Ketahanan terhadap paparan H_2O_2 tersebut berkaitan dengan efektivitas ekspresi enzim katalase. Sekresi katalase diyakini terkait dengan respons stres oksidatif sel mikroba untuk menghilangkan hidrogen peroksida beracun menjadi H_2O dan O_2 , sehingga pertumbuhan sel bakteri tetap optimal. Beberapa peneliti sebelumnya juga melaporkan kemampuan isolat bakteri tumbuh pada lingkungan ekstrem dengan memproduksi katalase dalam upaya mengurangi stress kondisi ekstrem tersebut (Yudha dkk., 2014). Hubungan linear antara pertumbuhan bakteri dan konsentrasi katalase yang dihasilkan sel juga dibuktikan oleh Qian dkk. (2021).

Berdasarkan pencocokan karakter fenotipik isolat MN1E dengan panduan identifikasi *Bergey's* menggunakan data karakter *Staphylococcus pasteurii* dan *Staphylococcus warnerii* (Gambar 3 dan Tabel 2), isolat MN1E memiliki kemiripan lebih tinggi dengan anggota spesies *Staphylococcus pasteurii*. Anggota genus *Staphylococcus* diketahui mempunyai kemampuan dalam melakukan *bioleaching* mangan. Seperti penelitian oleh Das, Sukla dan Pradhan (2012), yang melakukan penelitian *bioleaching* mangan menggunakan *Staphylococcus epidermidis*. Anggota genus *Staphylococcus* merupakan kelompok kemo-organotrof yang mampu mengoksidasi zat organik dan menghasilkan asam asetat serta CO_2 dengan kehadiran oksigen, memiliki enzim katalase, dan banyak ditemukan di permukaan tanah atau air (Schleifer, 2009).



Gambar 3. Karakter morfologi isolat bakteri pengoksidasi sulfur MN1E (a) koloni pada media 9K agar, dan (b) sel isolat bakteri dengan pewarnaan gram yang diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1.000×.

Tabel 2. Karakter fenotipik isolat bakteri MN1E

No		Karakter	Isolat	Referensi (Schleifer, 2009)	
			MN1E	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	<i>Staphylococcus warnerii</i>
Morfologi Koloni					
1	Bentuk Koloni	<i>Circular</i>	+	+	+
2	Tepi Koloni	<i>Entire</i>	+	+	+
3	Elevasi	Convex	+	+	-
		<i>Raised</i>	-	-	+
4	Warna	Krem	+	+	+
5	Ukuran	<i>Small</i> (1-10 mm)	+	+	+
6	Kenampakan	<i>Glistening</i>	+	+	+
7	Permukaan	<i>Smooth</i>	+	+	+
8	Transparansi	<i>Opaque</i>	+	+	+
9	Motilitas	Non-motil	+	+	+
Morfologi Sel					
10	Bentuk sel	<i>Staphylococci</i>	+	+	+
11	Gram	Positif	+	+	+
12	Ukuran sel	0,5 – 1,5 μm	+	+	+
Uji Biokimia					
13	Aerobilitas	Fakultatif anaerob	+	+	+
14	Suhu Pertumbuhan	- 4°C	+	+	+
		- 27°C	+	+	+
		- 55°C	-	-	-
15	Pertumbuhan pada NaCl 3,5%		+	+	+
16	Pertumbuhan pada <i>thiosulfat</i> 1%		+	nd	nd
17	Uji Fermentasi	- Glukosa	+	+	+
		- Laktosa	-	nd	+

No	Karakter	Isolat	Referensi (Schleifer, 2009)	
		MN1E	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	<i>Staphylococcus warnerii</i>
	- Sukrosa	+	+	+
18	Uji Katalase	+	+	+
19	Memproduksi asetoin	+	+	+
20	Mereduksi Nitrat	-	nd	w
21	Uji Hidrolisis Pati	+	nd	nd
22	Uji Simmons <i>citrate</i>	-	nd	nd
24	Uji H ₂ S	-	nd	nd
25	Uji Indol	-	nd	nd
26	Uji Kasein	-	nd	-

Keterangan :

+ : iya, ada, atau bereaksi positif

nd : tidak diketahui

- : tidak, tidak ada, bereaksi negatif

w : bereaksi lemah

KESIMPULAN DAN SARAN

Bakteri pengoksidasi sulfur berhasil diisolasi dari lokasi air panas candi Gedong Songo, Semarang dengan kode isolat MN1E. Dua isolat mutan dipilih untuk pengujian *bioleaching* dengan kode isolat N₅ dan D₁₀. Perlakuan mutasi dan waktu inkubasi memberikan pengaruh terhadap kemampuan *bioleaching* mangan isolat MN1E. Isolat N₅ memiliki kemampuan pelarutan mangan dan ketahanan terhadap H₂O₂ paling tinggi yaitu masing-masing sebesar 14,22 %, persentase hidup 92,5 % pada paparan konsentrasi H₂O₂ 1 % serta 82,5 % pada paparan konsentrasi H₂O₂ 3 %. *Staphylococcus pasteurii* MN1E teridentifikasi sebagai anggota species *Staphylococcus pasteurii*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa isolat MN1E sangat potensial untuk dikembangkan dalam proses ekstraksi logam pada industri penambangan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh KEMENRISTEK DIKTI Indonesia, melalui skema Hibah PDUPT dengan kontrak No. AMD/E1/KP.PTNBH/2020 dan 2798/UN1.DITLIT/DIT-LIT/PT/2020.

DAFTAR PUSTAKA

- Bal, B., Ghosh, S. dan Das, A. P. (2019) 'Microbial recovery and recycling of manganese waste and their future application: a review', *Geomicrobiology Journal*, 36(1), hal. 85–96. doi: 10.1080/01490451.2018.1497731.
- Barboza, N. R., Guerra-Sá, R. dan Leão, V. A. (2016) 'Mechanisms of manganese bioremediation by microbes: an overview', *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 91(11), hal. 2733–2739. doi: 10.1002/jctb.4997.
- Brenner, D. J., Krieg, N. R. dan Staley, J. R. (2005). *Bergey's Manual Systematic Bacteriology*, New York (US): Springer.
- Cárdenas, J. P., Moya, F., Covarrubias, P., Shmaryahu, A., Levicán, G., Holmes, D. S. dan Quatrini, R. (2012) 'Comparative genomics of the oxidative stress response in bioleaching microorganisms', *Hydrometallurgy*, 127–128, hal. 162–167. doi: 10.1016/j.hydromet.2012.07.014.
- Das, A. P., Sukla, L. B. dan Pradhan, N. (2012) 'Microbial Recovery of Manganese using *Staphylococcus Epidermidis*', *International Journal of Nonferrous Metallurgy*, 01(02), hal. 9–12. doi: 10.4236/ijnm.2012.12002.
- Dong, Y., Liu, Y., Lin, H. dan Liu, C. (2019) 'Improving vanadium extraction from stone coal via combination of blank roasting and bioleaching by ARTP-mutated *Bacillus mucilaginosus*', *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 29(4), hal. 849–858. doi: 10.1016/S1003-6326(19)64995-2.
- Ghosh, S., Mohanty, S., Akcil, A., Sukla, L. B. dan Das, A. P. (2016) 'A greener approach for resource recycling: Manganese bioleaching', *Chemosphere*, 154, hal. 628–639. doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.04.028.
- Ghosh, S. dan Das, A. P. (2017) 'Bioleaching of manganese from mining waste residues using *Acinetobacter* sp.', *Geology, Ecology, and Landscapes*, 1(2), hal. 77–83. doi: 10.1080/24749508.2017.1332847.
- Ghosh, S. dan Das, A. P. (2018) 'Metagenomic insights into the microbial diversity in manganese-contaminated mine tailings and their role in biogeochemical cycling of

- manganese', *Scientific Reports*, 8(1), hal. 8257. doi: 10.1038/s41598-018-26311-w.
- Han, S.-F., Jin, W., Tu, R., Ding, B., Zhou, X., Gao, S., Feng, X., Yang, Q. dan Wang, Q. (2020) 'Screening and mutagenesis of high-efficient degrading bacteria of linear alkylbenzene sulfonates', *Chemosphere*, 245, hal. 125559. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.125559.
- Huang, Y., Wang, L., Zhang, X., Su, N., Li, H., Oda, Y. dan Xing, X. (2021) 'Quantitative evaluation of DNA damage caused by atmospheric and room-temperature plasma (ARTP) and other mutagenesis methods using a rapid umu-microplate test protocol for microbial mutation breeding', *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 39, hal. 205–210. doi: 10.1016/j.cjche.2021.01.009.
- Kanakdande, A. P., Khobragade, C. N. dan Mane, R. S. (2021) 'Ultraviolet induced random mutagenesis in *Bacillus amyloliquefaciens* (MF 510169) for improving biodiesel production', *Fuel*, 304, hal. 121380. doi: 10.1016/j.fuel.2021.121380.
- Kusumaningrum, S. B. C., Warmada, I. W., Wilopo, W. dan Retnaningrum, E. (2020) 'Bioleaching Ability of Fungi Isolated from an Indonesian Sulfurous River Sediment', *Indonesian Journal of Chemistry*, 20(4), hal. 810. doi: 10.22146/ijc.44810.
- Li, X., Liu, R., Li, J., Chang, M., Liu, Y., Jin, Q. dan Wang, X. (2015) 'Enhanced arachidonic acid production from *Mortierella alpina* combining atmospheric and room temperature plasma (ARTP) and diethyl sulfate treatments', *Bioresource Technology*, 177, hal. 134–140. doi: 10.1016/j.biortech.2014.11.051.
- Marinho, H. S., Real, C., Cyrne, L., Soares, H. dan Antunes, F. (2014) 'Hydrogen peroxide sensing, signaling and regulation of transcription factors', *Redox Biology*, 2, hal. 535–562. doi: 10.1016/j.redox.2014.02.006.
- Mohanty, S., Ghosh, S., Bal, B. dan Das, A. P. (2018) 'A review of biotechnology processes applied for manganese recovery from wastes', *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 17(4), hal. 791–811. doi: 10.1007/s11157-018-9482-1.
- Nasiri, S. S., Sarabi, M., Fatemi, F. dan Dini, S. (2021) 'Investigating the rus and petl operon expression patterns in exposed *Acidithiobacillus ferrooxidans* sp. FJ2 to different doses of gamma irradiation', *Applied Radiation and Isotopes*, 177, hal. 109911. doi: 10.1016/j.apradiso.2021.109911.
- Prasidya, D. A., Wilopo, W., Warmada, I. W. dan Retnaningrum, E. (2019) 'Optimization of manganese bioleaching activity and molecular characterization of indigenous heterotrophic bacteria isolated from the sulfuric area', *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 20(7), hal. 1904–1909. doi: 10.13057/biodiv/d200716.
- Qian, H., Zhang, D., Cui, T., Chang, W., Cao, F., Du, C. dan Li, X. (2021) 'Accelerating effect of catalase on microbiologically influenced corrosion of 304 stainless steel by the halophilic archaeon *Natronorubrum tibetense*', *Corrosion Science*, 178, hal. 109057. doi: 10.1016/j.corsci.2020.109057.
- Retnaningrum, E. dan Wilopo, W. (2019) 'Pyrolusite Bioleaching by an Indigenous *Acidithiobacillus* sp KL3 Isolated from an Indonesian Sulfurous River Sediment', *Indonesian Journal of Chemistry*, 19(3), hal. 712. doi: 10.22146/ijc.38898.
- Schleifer, K.-H. (2009) 'Phylum XIII. Firmicutes Gibbons and Murray 1978, 5 (Firmicutes [sic] Gibbons and Murray 1978, 5)', in *Systematic Bacteriology*. New York, NY: Springer New York, hal. 19–1317. doi: 10.1007/978-0-387-68489-5_3.
- Travisany, D., Cortés, M. P., Latorre, M., Di Genova, A., Budinich, M., Bobadilla-Fazzini, R. A., Parada, P., González, M. dan Maass, A. (2014) 'A new genome of *Acidithiobacillus thiooxidans* provides insights into adaptation to a bioleaching environment', *Research in Microbiology*, 165(9), hal. 743–752. doi: 10.1016/j.resmic.2014.08.004.
- Urry, L. A., Cain, M. L., Wasserman, S. A., Minorsky, P. V. dan Reece, J. B. (2017) *Campbell Biology*. 11th ed. United State of America: Pearson Higher Education, Inc.
- Wu, W., Li, X., Zhang, X., Gu, T., Qiu, Y., Zhu, M. dan Tan, W. (2020) 'Characteristics of oxidative stress and antioxidant defenses by a mixed culture of acidophilic bacteria in response to Co^{2+} exposure', *Extremophiles*, 24(4), hal. 485–499. doi: 10.1007/s00792-020-01170-4.
- Yu, D., Kurola, J. M., Lähde, K., Kymäläinen, M., Sinkkonen, A. dan Romantschuk, M. (2014) 'Biogas production and methanogenic archaeal community in mesophilic and thermophilic anaerobic co-digestion processes', *Journal of Environmental Management*, 143, hal. 54–60. doi: 10.1016/j.jenvman.2014.04.025.

Yuan, X., Xie, X., Fan, F., Zhu, W., Liu, N. dan Liu, J. (2013) 'Effects of mutation on a new strain *Leptospirillum ferriphilum* YXW and bioleaching of gold ore', *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 23(9), hal. 2751–2758. doi: 10.1016/S1003-6326(13)62793-4.

Zhao, C., Yang, B., Liao, R., Hong, M., Yu, S., Wang, J. dan Qiu, G. (2022) 'Catalytic mechanism of manganese ions and visible light on chalcopyrite bioleaching in the presence of *Acidithiobacillus ferrooxidans*', *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 41, hal. 457–465. doi: 10.1016/j.cjche.2021.10.009.