

BIOREMEDIASI AIR ASAM TAMBANG BATUBARA DENGAN PENGAYAAN BAKTERI PEREDUKSI SULFAT DAN PENAMBAHAN SUBSTRAT ORGANIK

Bioremediation of Acid Mine Drainage by Enrichment of Sulphate-Reducing Bacteria and Addition of Organic Substrate

IWAN PERALA^{1*}, MOHAMAD YANI^{2**} dan IRDIKA MANSUR^{3**}

¹ Program Studi Bioteknologi Tanah dan Lingkungan, Sekolah Pascasarjana, IPB University

² Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB University

³ Departemen Silvikultur, Fakultas Kehutanan dan Lingkungan, IPB University

Jl. Ulin, Kampus IPB, Kec. Dramaga, 16680, Bogor, Indonesia

Korespondensi e-mail: moh.yani@apps.ipb.ac.id

* Kontributor Utama, ** Kontributor Anggota

ABSTRAK

Air asam tambang (AAT) memiliki dampak negatif yang harus dikelola karena dapat menyebabkan pencemaran lingkungan dan mengganggu operasional pertambangan. Air asam tambang mengandung logam-logam berat terlarut yang berbahaya bagi ekosistem. Bakteri pereduksi sulfat (BPS) dapat digunakan dalam bioremediasi air asam tambang. Penelitian ini menganalisis pH, C-organik dan BPS yang tumbuh di sedimen air asam tambang batubara dan beberapa ekosistem lain, serta menganalisis C/N rasio dan pH dari substrat organik potensial. Tujuan penelitian adalah pemulihan AAT dengan pengayaan BPS *indigenous* dan penambahan substrat organik. Ekosistem yang diamati adalah sedimen AAT, lumpur sawah, sedimen mangrove, sedimen situ, sedimen selokan, dan tanah rhizosfer. Substrat organik yang diujikan berupa kompos eceng gondok, campuran lumpur sawah dengan serbuk gergajian kayu, kompos tandan kosong kelapa sawit (TKS), pupuk kandang ayam, pupuk kandang sapi, limbah pabrik susu, serta campurannya. Hasil penelitian menunjukkan BPS dapat ditemukan di semua ekosistem yang diteliti pada kisaran $5,85E+2$ – $1,26E+5$ MPN-unit/BKT. Nilai C/N rasio dengan variasi 9,23 - 89,5 memiliki korelasi negatif terhadap peningkatan pH. Pemberian substrat organik dengan konsentrasi 3, 5, 7 dan 10% membantu BPS dalam meningkatkan pH AAT hingga melebihi 6 dan menurunkan Fe sebesar 88,18 – 97,27%. Populasi BPRS tertinggi diperoleh pada perlakuan campuran TKS dan kotoran ayam dengan populasi $2,41E+12$ MPN-unit/BKT.

Kata kunci: air asam tambang, substrat organik, bakteri pereduksi sulfat.

ABSTRACT

Acid mine drainage (AMD) has a negative impact that must be managed because it can cause environmental pollution and disrupt mining operations. Acid mine drainage contains dissolved heavy metals that are harmful to the ecosystem. Sulfate-reducing bacteria (SRB) can be used in acid mine drainage bioremediation. This study aims to analyze pH, C-organic and BPS growing in acid water sediments of coal mines and several other ecosystems, analyze C/N ratio and pH of potential organic substrates, and recover AMD by enrichment of indigenous SRB and addition of organic substrates. The ecosystems observed were AMD sediment, paddy field mud, mangrove sediment, in situ sediment, ditch sediment, and rhizosphere soil. The organic materials tested included water hyacinth compost, a mixture of paddy field mud with wood sawdust, oil palm empty fruit bunch (EFB) compost, chicken manure, cow manure, dairy factory waste, and mixtures thereof. The results showed that SRB could be found in all studied ecosystems in the range of $5.8E+2$ – $1.26E+5$ MPN-unit/dry weight. The value of the C/N ratio with variations from 9.23-89.5 had a negative correlation with increasing pH. The

application of organic matter with concentrations of 3%, 5%, 7%, and 10% helped SRB to raise the pH of AMD to more than 6 and reduced Fe by 88.18 – 97.27%. The highest SRB population was obtained in the mixed treatment of EFB and chicken manure with a population of $2.41E+12$ MPN-unit/dry weight.

Keywords: acid mine drainage, organic matter, sulfate-reducing bacteria.

PENDAHULUAN

Pertambangan dikenal sebagai industri pionir yang memerlukan investasi besar karena membutuhkan pembangunan infrastruktur yang membuka suatu wilayah dari isolasi geografis. Salah satu jenis tambang yang banyak di Indonesia adalah tambang batubara. Menurut Dariah, Abdurachman dan Subardja (2010) areal pertambangan yang dilengkapi izin usaha penambangan di Indonesia jumlahnya sekitar 2,2 juta ha di bawah Perjanjian Pengusahaan Batubara (PKP2B), dan 2,9 juta ha berdasarkan Kontrak Karya (KK). Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (2019), produksi batubara Indonesia sebesar 616 ribu ton. Kegiatan pertambangan yang mengeksploitasi serta membuka bentang alam memiliki dampak negatif bagi lingkungan, salah satunya adalah terbentuknya air asam tambang (AAT). Menurut Prianto (2016) AAT menjadi salah satu dampak penting dari kegiatan pertambangan karena dampaknya yang melebihi umur operasional pertambangan sehingga harus dikelola dengan tepat. Secara langsung maupun tidak, tingkat kemasaman yang tinggi pada AAT memengaruhi kualitas lingkungan dan kehidupan makhluk hidup.

Pembentukan air asam tambang terjadi akibat adanya proses oksidasi mineral pirit (FeS_2) dan mineral sulfida lainnya yang tersingkap dari dalam tanah ke permukaan tanah dalam proses pengambilan bahan mineral tambang. Adanya mineral pirit, air dan oksigen akan mengakibatkan proses oksidasi. Proses pembentukan AAT dipercepat dengan adanya reaksi biokimia yang melibatkan bakteri *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Adanya aktivitas bakteri pengoksidasi besi meningkatkan kecepatan pembentukan AAT $10^5 - 10^6$ kali lipat dengan melarutkan logam sulfida (MS) menjadi ion sulfat (SO_4^{2-}) dan ion logam senyawa logam sulfat (MSO_4). Kelompok mikroorganisme *Acidithiobacillus* berperan penting untuk pelarutan Cu, Zn, Fe, dan As dari bijih dan mempercepat pelarutan mineral sulfida, yang mengarah pada

peningkatan produksi air asam tambang drainase (Khan dkk., 2012; Maluckov, 2017; Feng dkk., 2021).

Pada pH rendah, hanya mikroorganisme asidofil yang mampu bertahan dan hidup sehingga adanya AAT dapat merusak keragaman hayati (Widyati, 2011). Menurut Gautama (2012) logam terlarut sangat berbahaya bagi kesehatan manusia walaupun dalam jumlah kecil, karena dapat terakumulasi dalam rantai makanan. Berdasarkan Undang-undang No. 3 Tahun 2020 tentang Perubahan Atas UU Nomor 4 Tahun 2009 Pertambangan Mineral dan Batubara serta Undang-undang No. 32 Tahun 2009 tentang Perlindungan dan Pengelolaan Lingkungan Hidup, pelaku usaha pertambangan harus bertanggungjawab terhadap berbagai dampak lingkungan yang ditimbulkannya, apabila pelaku usaha pertambangan dianggap lalai dalam melakukan pengelolaan lingkungan maka dapat dikenakan sanksi berupa denda maupun pidana.

Penanganan dengan metode konvensional umumnya menggunakan bahan kimia yang membutuhkan biaya besar serta tenaga manusia yang secara terus menerus mengelola instalasi pengolahan AAT untuk menambah bahan kimia (Prianto, 2016). Oleh karena itu diperlukan *passive treatment* dalam pengolahan AAT. Menurut GARD Guide (2009) *passive treatment* adalah suatu sistem pengolahan air yang memanfaatkan sumber energi yang tersedia secara alami seperti gradien topografi, energi metabolisme mikrob, fotosintesis dan energi kimia. Pendekatan bioteknologi dengan menggunakan bakteri pereduksi sulfat (BPS) adalah salah satu cara yang digunakan dalam *passive treatment*. Menurut Prianto (2016) dengan memanfaatkan aktivitas BPS, akumulasi sulfat akan menurun. Ion sulfat, sulfit atau thiosulfat dimanfaatkan oleh BPS sebagai aseptor elektron untuk mendapatkan energi dalam proses metabolismenya. Setelah menerima elektron ion-ion tersebut akan tereduksi menjadi sulfida. Hasil penelitian Widyati (2006) menunjukkan bahwa pada tanah bekas

tambang batubara pemberian substrat organik yang dikoloni oleh BPS dapat menurunkan kelarutan logam Fe, Mn, Zn dan Cu dalam tanah sebesar 68–97% setelah 15 hari inkubasi. Hasil penelitian Dewani (2015) pada skala pilot menunjukkan bahwa pertumbuhan BPS tertinggi setelah 20 hari pemberian substrat organik sebanyak $3,2 \times 10^6$ CFU/mL. Penelitian Yusron (2009) menunjukkan BPS mampu mereduksi sulfat hingga 89%, menurunkan kadar logam terlarut hingga 97% dan menaikkan pH hingga 7 menggunakan reaktor biofilm BPS dengan kerapatan sel 1×10^9 CFU/mL setelah 30 hari.

Peningkatan jumlah sel bakteri yang hidup diperlukan untuk meningkatkan efektivitas dan efisiensi pengolahan AAT dan akan mempersingkat waktu tinggal (*retention time*) dalam kolam AAT. Lokasi pertambangan yang jauh dari pemukiman membutuhkan teknologi yang tepat untuk penerapan skala lapang. Penelitian Yusron dkk. (2009) menunjukkan bahwa BPS dapat diisolasi dari sedimen kolam penampungan air asam tambang. Artinya, BPS mampu tumbuh dalam air asam tambang yang memiliki pH rendah. Sánchez-Andrea dkk. (2013) menambahkan bahwa sebagian BPS masih mampu hidup pada pH 4 atau disebut *acidophilic sulfate reducing bacteria*. Hasil penelitian Phyo dkk. (2020) menunjukkan bahwa pada pH 2 masih terdapat BPS dari famili *Clostridiaceae* sebanyak 5,5 %, dan pada pH 3 meningkat menjadi 67,9 % (*Clostridiaceae*), 18,7 % (*Desulfosporosinus*).

Bakteri pereduksi sulfat merupakan bakteri yang bersifat anaerob heterotrof, sehingga sering ditemukan di bagian bawah sedimen dan membutuhkan substrat organik untuk pertumbuhan dan aktivitasnya. Phyo dkk. (2020) menunjukkan bahwa penambahan substrat organik meningkatkan pertumbuhan BPS secara signifikan dan menurunkan populasi bakteri yang bersifat *autotrophic bioleaching* seperti bakteri pengoksidasi besi dan sulfur yang menyebabkan pH menjadi rendah serta meningkatkan pH AAT.

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan memulihkan AAT dengan pengayaan BPS *indigenous* dan penambahan substrat organik hingga mencapai baku mutu limbah AAT yang dipersyaratkan.

METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2020–Maret 2021 di Laboratorium Bioteknologi, dan Laboratorium Biosistem dan Manajemen Lansekap, SEAMEO BIOTROP serta di Laboratorium Silvikultur Fakultas Kehutanan dan Lingkungan, IPB. Analisis sifat kimia AAT dilakukan dengan metode SNI 6989.11:2019 (pH), SM 23rd Ed.3120.B-2017 (Fe dan Mn), SNI 6989.70:2009 (H₂S), dan SNI 6989.20:2019 (SO₄).

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sedimen air asam tambang (AAT), AAT, lumpur sawah (SWH), sedimen mangrove (MGR), sedimen situ burung (SBR), sedimen selokan kolam FPIK IPB (SSF), tanah rhizosfer arboretum Fakultas Kehutanan dan Lingkungan IPB (ARB), kompos tandan kosong kelapa sawit (TKS), pupuk kandang ayam (PKA), kompos eceng gondok (ECG), campuran lumpur sawah dan serbuk gergajian kayu dengan perbandingan 1:1 (SWG), pupuk organik limbah pabrik susu (LPS), pupuk kandang sapi, campuran TKS dengan pupuk kandang ayam dengan perbandingan 1:1 (PKATKS), campuran TKS dengan pupuk organik limbah pabrik susu dengan perbandingan 1:1 (LPSTKS), dan campuran TKS dengan pupuk kandang sapi dengan perbandingan 1:1 (PKSTKS), H₂SO₄, KOH, dan media Postgate B yang terdiri dari: Natrium laktat (8 mL), MgSO₄ (1 g), NH₄Cl (0,5 g), KH₂PO₄ (1 g), FeSO₄ (0.1 g), asam askorbat (0,5 g), glukosa (0,1), CaCl₂ (0,1 g), Na₂SO₄ (0,5 g), dan ekstrak khamir (0,1 g); larutan fisiologis yang terdiri dari: NaCl (8,5 g) dan Akuades (1 L). Semua bahan kimia yang digunakan untuk analisis berstandar pro analisis.

Pembuatan Air Asam Tambang (AAT)

Air asam tambang dibuat dengan cara mencampurkan batuan PAF (*potential acid forming*) dengan air (pH 6,73), dengan perbandingan 1:5 (w/v) selama 4 hari hingga terbentuk AAT dengan pH 2,53. Air asam tambang yang sudah terbentuk sebanyak 160 L dipindahkan ke dalam ember.

Air asam tambang yang telah terbentuk diambil dari bagian permukaan, tengah, dan dasar ember, kemudian dicampur hingga mencapai

total 1 L. AAT perlakuan tersebut dianalisis pH, kadar sulfat, sulfida, serta Fe dan Mn terlarut.

Analisis Substrat Sumber BPS

Analisis pH dan C-organik tanah dilakukan untuk mengetahui nilai pH dan kandungan substrat organik tanah berbagai sumber BPS sebagai faktor yang memengaruhi populasi dan aktivitas BPS di lingkungan. Ekosistem yang dipilih adalah sedimen AAT yang memiliki karakteristik yang buruk dengan pH rendah. Sebagai pembanding dipilih beberapa lokasi berlumpur lain yaitu sedimen mangrove, lumpur sawah, sedimen selokan kolam Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB, lumpur situ burung untuk melihat perbedaan jumlah BPS, serta dari tanah hutan arboretum Fakultas Kehutanan dan Lingkungan IPB untuk melihat populasi BPS pada tanah yang tidak tergenang air. Analisis pH dilakukan dengan metode SNI 6989.11:2019, kandungan C-organik dilakukan sesuai dengan metode pembakaran (SNI 03-2816-1992). Substrat organik yang digunakan adalah kompos tandan kosong kelapa sawit (TKS), pupuk kandang ayam, kompos eceng gondok, campuran lumpur sawah dan serbuk gergajian kayu dengan perbandingan 1:1, pupuk organik limbah pabrik susu, pupuk kandang sapi, campuran TKS dengan pupuk kandang ayam dengan perbandingan 1:1, campuran TKS dengan pupuk organik limbah pabrik susu dengan perbandingan 1:1, dan campuran TKS dengan pupuk kandang sapi dengan perbandingan 1:1.

Analisis Populasi BPS dan Pertumbuhannya

Analisis populasi BPS dilakukan dengan metode *most probable number* (MPN) tiga seri berdasarkan US Food and Drug Administration (FDA) (2020) yang dimodifikasi sesuai kebutuhan. Sedimen masing-masing 10 g dicampur dengan 90 mL larutan fisiologis dan dihomogenkan dengan vorteks selama 5 menit, kemudian didiamkan hingga sedimen mengendap. Selanjutnya dilakukan pengenceran dengan mencampur 1 mL larutan ke 9 mL larutan fisiologis. Uji keberadaan BPS dilakukan dengan menggunakan media Postgate B dengan pH 5, dan 6,5 yang dimasukkan dalam botol kaca 10 mL dengan pengenceran sampai 7 tingkat. Pengaturan pH dilakukan dengan penambahan KOH 0,1 N

dan H_2SO_4 0,1 N. Untuk mendapatkan kondisi anaerob, ditambahkan paku dan parafin cair yang sudah disterilkan. Sterilisasi parafin cair dilakukan dengan cara dipanaskan dalam oven pada suhu 150 °C selama 1,5 jam.

Inkubasi dilakukan selama 14 hari, ditandai dengan berubahnya warna media menjadi hitam, sebagai akibat dari aktivitas BPS yang menghasilkan H_2S yang berikatan dengan logam Fe membentuk senyawa FeS . Apabila botol dibuka tercium bau seperti telur busuk yang merupakan bau gas H_2S . *Assesment* dilakukan dengan menghitung jumlah botol yang ditumbuhi BPS kemudian dihitung menggunakan kalkulator bakteri (FDA, 2020). Untuk mendapatkan standar satuan dalam berat kering tanah (BKT), lumpur atau tanah yang sebelumnya digunakan untuk uji keberadaan BPS dioven pada suhu 105 °C selama 24 jam kemudian dihitung berat keringnya dan dilakukan konversi nilai MPN yang didapat.

Analisis pH, C, dan N pada substrat organik dilakukan untuk mengetahui karakteristik kimia substrat organik yang mendukung pertumbuhan BPS serta aktivitasnya dalam mereduksi sulfat.

Bioremediasi AAT dengan Penambahan Substrat organik (TAHAP I)

Air asam tambang sebanyak 80 mL dimasukkan ke dalam botol kemudian ditambah substrat organik. Air asam tambang yang digunakan adalah AAT yang telah ditambahkan H_2SO_4 0,1 N hingga nilai pH mencapai 2. Hal ini dilakukan karena keterbatasan material PAF yang mampu membentuk AAT dengan nilai pH 2–3. Masing-masing substrat organik konsentrasi 3, 5, 7, dan 10% (w/v) dengan 3 ulangan ditambah 3 perlakuan kontrol berupa AAT saja. Sebelumnya substrat organik disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121 °C selama 1 jam. Sterilisasi diulang 2 kali dengan jarak 3 hari untuk memastikan spora mikroba bersih dari substrat organik tersebut. Pengukuran pH dilakukan setiap hari selama 14 hari.

Pada tahap I dipilih jenis bahan organik yang berperan dalam peningkatan pertumbuhan BPS dan keberhasilan bioremediasi AAT, untuk dilanjutkan pada tahap II.

Bioremediasi AAT dengan Penambahan Substrat organik dan Aktivasi Bakteri Pereduksi Sulfat (BPS) (TAHAP II)

Air asam tambang dimasukkan ke dalam toples sebanyak 1,5 L, kemudian ditambah sedimen AAT sebanyak 300 g dan substrat organik sebanyak 10 % (w/v). Penambahan sedimen AAT bertujuan sebagai tempat tumbuhnya BPS. Substrat organik yang digunakan adalah tandan kosong kelapa sawit (TKS) saja, campuran TKS dengan pupuk kandang ayam dengan perbandingan 1:1, campuran TKS dengan pupuk organik limbah pabrik susu dengan perbandingan 1:1, dan campuran TKS dengan pupuk kandang sapi dengan perbandingan 1:1. Sebelumnya substrat organik disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121 °C selama 1 jam. Sterilisasi diulang 2 kali dengan jarak 3 hari untuk memastikan spora mikroba bersih dari substrat organik tersebut. Perlakuan masing-masing dibuat 3 ulangan, dengan kontrol berupa AAT yang tidak diberi substrat organik sebanyak 3 ulangan.

Pengukuran pH dilakukan setiap 2 hari selama 4 pekan menggunakan pH meter digital. Sedimen yang digunakan untuk membuat AAT pada tahap ke-1, ditambahkan sebanyak 50 g (berat basah) ke dalam masing-masing toples penelitian tahap ke-3. Pada pekan ke-0, 2, dan 4 dilakukan pengukuran kerapatan sel BPS yang tumbuh dalam sedimen AAT dengan cara ditumbuhkan pada media Postgate B dengan metode *most probable number* (MPN) berdasarkan US Food and Drug Administration (FDA, 2020) sampai tingkat pengenceran 12, kemudian diinkubasi selama 14 hari. Sampel diambil dari sedimen dengan cara mencampur dari 3 ulangan yang ada. *Assesment* dilakukan dengan menghitung jumlah botol yang ditumbuhi BPS, kemudian dihitung menggunakan kalkulator bakteri (FDA, 2020). Untuk mendapatkan standar satuan dalam berat kering tanah (BKT), lumpur atau tanah yang sebelumnya digunakan untuk uji keberadaan BPS dioven dengan suhu 105 °C selama 24 jam kemudian dihitung berat keringnya dan dilakukan konversi nilai MPN yang didapat dengan membandingkan jumlah bakteri pada sedimen dengan tanah yang sudah dikeringkan.

Analisis AAT setelah perlakuan dilakukan pada pekan ke-4 untuk mengetahui perubahan kualitas

AAT. Analisis AAT dilakukan terhadap parameter pH, kadar sulfat, sulfida, serta Fe dan Mn.

Analisis Data

Analisis data dilakukan secara deskriptif untuk parameter jumlah sulfat, sulfida, Fe dan Mn terlarut. Parameter pH, Fe dan Mn terlarut dibandingkan dengan Keputusan Menteri Lingkungan Hidup Nomor 113 Tahun 2003 Tentang baku mutu air limbah bagi usaha dan atau kegiatan pertambangan batubara. Nilai pH pada tahap ke-2 dan 3 diuji sidik ragam anova pada selang kepercayaan 95%, dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) menggunakan *software* SAS v9.3.1. Uji korelasi dilakukan dengan uji korelasi Pearson menggunakan *software* SPSS v16.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik AAT

Air asam tambang yang terbentuk dari pencampuran air dengan batuan PAF memiliki pH 2,53 dengan kandungan Fe terlarut sebesar 110 mg/L, Mn terlarut 0,7 mg/L, H₂S <0,01 mg/L dan SO₄ 223 mg/L.

Perbandingan Populasi Bakteri Pereduksi Sulfat di Air Asam Tambang dan Ekosistem Lain

Uji keberadaan bakteri pereduksi sulfat (BPS) dilakukan dari berbagai ekosistem bertujuan membandingkan populasi BPS yang tumbuh di lingkungan biasa dengan lingkungan ekstrem seperti kolam air asam tambang (AAT). Menurut Postgate (1984) BPS dapat ditemukan di hampir semua lingkungan di bumi, mulai dari tanah, air tawar, air laut dan air payau, sumber air panas, daerah geothermal sumur minyak dan gas, cadangan sulfur, endapan lumpur, selokan, besi berkarat, rumina kambing dan usus serangga. Uji keberadaan BPS dengan dua nilai pH yang berbeda dimaksudkan untuk melihat keragaman BPS yang mampu tumbuh berdasarkan nilai pH media dan mencari nilai pH media yang tepat untuk digunakan pada tahap penelitian selanjutnya.

Tabel 1 menunjukkan bahwa BPS ditemukan hidup di semua ekosistem yang diuji, namun dengan populasi yang berbeda. Berdasarkan

hasil penelitian diketahui bahwa BPS lebih banyak tumbuh pada media dengan pH 6,5 daripada media dengan pH 5. Hal ini menunjukkan bahwa media yang cocok untuk isolasi BPS dari AAT dalam penelitian ini adalah media dengan pH 6,5, sesuai dengan Phyo *dkk.* (2020) yang menyatakan bahwa umumnya BPS menyukai $pH > 5,5$. Menurut Kushkevych (2020) pengaruh keasaman (pH) adalah salah satu dari banyak faktor lingkungan penting yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi karakteristik fisiologis galur BPS baru. Penurunan dan peningkatan keasaman medium dapat menyebabkan penurunan laju pertumbuhan BPS dan produksi hidrogen sulfida. Kelly *dkk.* (1984) melaporkan bahwa proses reduksi sulfat disimilasi secara signifikan melambat pada pH rendah. Peningkatan pH medium hingga 9,0-10,0 menyebabkan terhambatnya pertumbuhan bakteri yang diteliti.

Populasi BPS di tanah arboretum Fahutan IPB (Tabel 1) tumbuh pada media bernilai pH 5 dengan jumlah $7,02E+0$ MPN-unit/BKT dan pada pH 6,5 dengan jumlah $5,85E+0$ MPN-unit/BKT. Taroreh, Karwur dan Mangimbulude (2015) menjelaskan BPS bersifat anaerob obligat, namun dapat bertahan dalam waktu yang cukup lama pada kondisi aerasi yang baik bila tersedia nutrisi yang berlimpah. Kondisi tanah arboretum Fahutan IPB yang memiliki aerasi baik menyebabkan pori-pori tanah terisi gas O_2 berpengaruh terhadap rendahnya populasi BPS yang merupakan mikrob anaerob obligat. Krekeler, Teske dan Cypionka (1998) menjelaskan bahwa oksigen menonaktifkan berbagai enzim dari bakteri pereduksi sulfat dan keterpaparan oksigen selama berjam-jam atau

berhari-hari menurunkan viabilitasnya. Dolla, Fournier dan Dermoun (2006) menambahkan, sebagian BPS memiliki toleransi terhadap oksigen, namun tidak untuk waktu yang lama. *Desulfovibrio desulfuricans* NCIB8301 mampu tumbuh di lingkungan terpapar oksigen selama 24 jam pertama namun menurun drastis apabila melebihi waktu tersebut. Uji korelasi (Tabel 2) menunjukkan bahwa kadar air berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan populasi BPS, semakin tinggi kadar air di ekosistem akan meningkatkan jumlah BPS. Kondisi pH tanah yang bersifat masam dengan nilai pH 3.90 semakin menghambat pertumbuhan BPS di lokasi tersebut, walaupun uji korelasi tidak menunjukkan hasil yang kuat. Menurut Yusron (2009) hal-hal yang memengaruhi keragaman BPS adalah kondisi lingkungan, kemasaman lingkungan, kedalaman sedimen, ketersediaan energi dari substrat organik, dan kandungan sulfat (Yusron, 2009). Widyati (2011) menjelaskan bahwa BPS menggunakan sulfat sebagai akseptor elektron dan substrat organik sebagai donor elektron untuk pertumbuhannya.



Gambar 1. Perubahan warna media isolasi sebagai tanda tumbuh BPS

Tabel 1. Populasi bakteri pereduksi sulfat (BPS) yang diperoleh dari beberapa lokasi pada pH media yang berbeda

Sumber	pH substrat	C-organik (%)	Kadar air (%)	pH media	Populasi (MPN-unit/BKT)
AAT	3,16	17,67	51,71	5,0	$6,21E+0$
				6,5	$3,11E+2$
SWH	4,91	14,33	59,00	5,0	$1,07E+2$
				6,5	$5,61E+4$
SBR	4,64	17,84	69,82	5,0	$1,26E+5$
				6,5	$7,62E+2$
SSF	5,70	8,31	48,73	5,0	$7,32E+2$
				6,5	$3,66E+3$
MGR	6,00	13,40	49,00	5,0	$1,80E+2$
				6,5	$1,80E+3$
ARB	3,90	14,92	42,62	5,0	$7,02E+0$
				6,5	$5,85E+0$

Tabel 2. Hasil uji korelasi Pearson antara pH, C-organik, dan kadar air dengan populasi BPS

Parameter		Hasil		
		pH inokulum	C-organik	Kadar air
Populasi	<i>Pearson correlation</i>	0,017	0,288	0,604*
	<i>Sig. (2-tailed)</i>	0,959	0,364	0,037
	N	12	12	12

*Uji korelasi berpengaruh nyata pada tingkat kepercayaan 95 % (2-tailed)

Bakteri pereduksi sulfat merupakan bakteri heterotrof obligat yang membutuhkan substrat organik sebagai sumber energi untuk pertumbuhannya. Prianto (2016) menjelaskan bahwa BPS memerlukan donor elektron dari asam-asam organik berbobot molekul rendah seperti laktat, asetat, propionat, butirat, etanol yang dapat diperoleh dari mineralisasi substrat organik. Jumlah BPS tertinggi yang dapat diperoleh berasal dari lumpur situ burung sebanyak $1,26E+05$ MPN-unit/BKT dengan pH media bernilai 5. Pada pH media 6,5 jumlah tertinggi yang dapat diperoleh adalah $5,61E+04$ MPN-unit/BKT dari lumpur sawah. Uji keberadaan pada nilai pH yang berbeda dilakukan untuk menentukan nilai pH media yang tepat untuk melakukan isolasi BPS di tahap berikutnya. Lumpur merupakan tempat yang baik bagi pertumbuhan BPS karena bersifat anoksik. Habitat pertumbuhan bakteri pereduksi sulfat cukup luas, selain di lautan, bakteri ini juga ditemukan di lahan sawah dan perairan darat. Menurut Yusron dkk. (2009) BPS lebih banyak ditemukan pada lingkungan anoksik, terutama di bagian bawah sedimen. Selain karena bersifat anoksik, lumpur sawah dan lumpur situ burung mengandung substrat organik yang tinggi seperti tertera pada Tabel 1.

Bioremediasi AAT dengan Penambahan Substrat Organik (TAHAP I)

Penggunaan jenis substrat organik yang tepat akan berpengaruh terhadap pertumbuhan sel BPS. Substrat organik yang kaya nutrisi memiliki hasil pertumbuhan BPS yang lebih baik. Selain itu, tingkat kematangan substrat organik menentukan kemampuan BPS dalam memanfaatkannya, hal ini berkaitan dengan kemampuan BPS memanfaatkan sumber C dalam bentuk yang sederhana. Nielsen dkk. (2019) menjelaskan efisiensi dari proses reduksi sulfat bergantung pada tiga hal utama yaitu konsentrasi logam yang ada dalam asam AAT, keberadaan BPS dan substrat organik, dan waktu retensi hidrolik. Suhu juga

merupakan parameter yang dapat memengaruhi efisiensi reduksi sulfat.

Analisis nisbah C/N bertujuan untuk mengetahui lama proses dekomposisi substrat organik berdasarkan perbandingan karbon dan nitrogen yang terkandung dalam substrat organik. Tabel 3 menunjukkan lumpur sawah yang dicampur dengan serbuk gergaji (SWG) memiliki nilai nisbah C/N tertinggi sebesar 89,50, dengan kandungan C sebesar 30,43% dan N sebesar 0,34%. Tingginya nisbah C/N dipengaruhi oleh kadar N yang rendah, serta tingginya C dalam serbuk gergaji yang mengandung lignin dan selulosa yang tinggi. Semakin rendah nisbah C/N (< 40) pada substrat organik, menunjukkan bahwa substrat organik tersebut telah terdekomposisi oleh mikroba (Tanimu dkk., 2014).

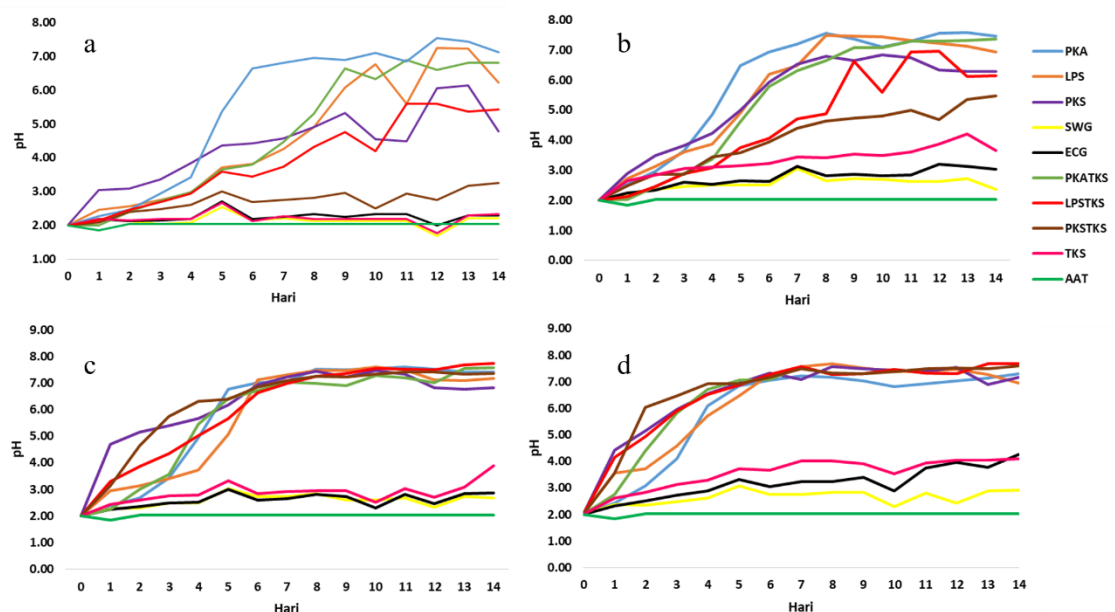
Tabel 3. Karakteristik substrat organik

Jenis Substrat organik	pH	C-organik (%)	N-total (%)	Nisbah C/N
ECG	4,69	31,76	3,44	9,23
LPS	6,51	26,03	1,69	15,40
PKS	7,62	35,43	2,75	12,88
PKA	8,44	27,16	2,53	10,74
TKS	8,68	53,12	0,71	74,82
SWG	6,48	30,43	0,34	89,50

Gambar 2 menunjukkan perubahan pH AAT yang diberi berbagai jenis substrat organik selama 14 hari. Nilai awal pH AAT sintetik adalah 2,00. Penambahan substrat organik kotoran kandang ayam (PKA), *sludge* limbah pabrik susu (LPS) dan campuran antara kotoran kandang ayam dengan tandan kosong kelapa sawit (PKATKS) sebanyak 3% mampu menaikkan pH melebihi 6 selama 14 hari pengamatan. Kemudian, penambahan substrat organik 5% mampu meningkatkan pH melebihi 6 dengan jenis substrat organik berupa kotoran kandang ayam (PKA), *sludge*

limbah pabrik susu (LPS), kotoran kandang sapi (PKS), campuran antara kotoran kandang ayam dengan tandan kosong kelapa sawit (PKATKS) dan campuran antara *sludge* limbah pabrik susu dengan tandan kosong kelapa sawit (LPSTKS). Penambahan substrat organik sebesar 3 dan 5% sudah mampu menaikkan pH hingga melebihi 6 dalam waktu 14 hari, namun terdapat fluktuasi nilai pH seperti

terlihat pada Gambar 2a dan 2b. Fluktuasi nilai pH juga ditemukan pada hasil penelitian Dewani (2015) dan Prianto (2016). Hal ini diduga karena terjadi fluktuasi aktivitas dan populasi bakteri pereduksi sulfat (BPS) dalam memanfaatkan sumber karbon. Dewani (2015) menjelaskan bahwa BPS seperti *Desulfovibrio sp.* mengoksidasi karbon organik secara tidak sempurna menjadi asetat dan CO₂.



Gambar 2. Perubahan pH AAT yang diberi substrat organik 3% (a), 5% (b), 7% (c) dan 10% (d) selama 14 hari inkubasi pada suhu ruang

Tabel 4. Perbandingan nilai pH AAT setelah ditambah substrat organik

Jenis substrat organik	pH	Jenis substrat organik	pH	Jenis substrat organik	pH
LPSTKS7	7,73a	LPS10	6,95bc	TKS5	3,66hi
PKATKS10	7,67a	LPS5	6,92bc	PKSTKS3	3,26ij
LPSTKS10	7,67a	PKS7	6,83c	ECG5	3,03jk
PKSTKS10	7,61a	PKATKS 3	6,80c	SWG10	2,93jk
PKATKS 7	7,58a	PKS5	6,29d	ECG7	2,87jkl
PKATKS 7	7,58a	LPS 3	6,23d	SWG7	2,69klm
PKA5	7,46ab	LPSTKS 5	6,14d	SWG5	2,36lmn
PKA7	7,40abc	PKSTKS5	5,48e	TKS3	2,33lmn
PKATKS 5	7,37abc	LPSTKS 3	5,42e	ECG3	2,30mn
PKA10	7,31abc	PKS3	4,79f	SWG3	2,21mn
LPS7	7,16abc	ECG10	4,25g	AAT	2,03n
PKS10	7,16abc	TKS10	4,11gh		
PKA3	7,13abc	TKS 7	3,89gh		

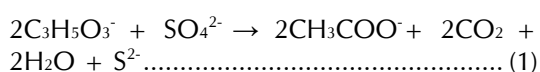
Keterangan: PKA = Pupuk organik kotoran kandang ayam; LPS = Pupuk organik limbah pabrik susu; PKS = Pupuk organik kotoran kandang sapi; SWG = Campuran antara lumpur sawah dengan serbuk gergajian kayu; ECG = Kompos eceng gondok; PKATKS = Campuran TKS dengan pupuk organik kotoran kandang ayam; LPSTKS = Campuran TKS dengan pupuk organik limbah pabrik susu; PKSTKS = Campuran TKS dengan pupuk organik kotoran kandang sapi; TKS = Tandan kosong kelapa sawit; AAT = Kontrol. Angka setelah kode sampel menunjukkan dosis yang dipakai (%). Huruf yang sama menunjukkan perlakuan tidak beda nyata tingkat kepercayaan 95%.

Tabel 5. Hasil uji korelasi Pearson antara C/N ratio dan pH

Parameter	Hasil	
	C/N Ratio	pH
Pearson Correlation	1	-0,592**
Sig. (2-tailed)		0,000
N	36	36

** Uji korelasi berpengaruh nyata pada tingkat kepercayaan 99 % (2-tailed).

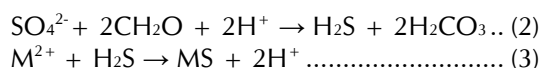
Dalam proses reduksi sulfat, bakteri pereduksi sulfat membutuhkan energi yang diperoleh dari proses oksidasi laktat, seperti reaksi berikut:



Dalam reaksi tersebut 2 mol laktat dibutuhkan untuk mengoksidasi 1 mol sulfat, dan menghasilkan 2 mol asetat. Pembentukan asetat tersebut memengaruhi pertumbuhan BPS. Ayangbenro, Olanrewaju dan Babalola (2018) melaporkan bahwa bakteri pereduksi sulfat sangat sensitif pada asam asetat. Adanya akumulasi produksi asetat tersebut akan menghambat pertumbuhan bakteri. Gambar 2c dan 2d menunjukkan perubahan pH selama 14 hari dengan penambahan substrat organik sebanyak 7 % dan 10 % dari total volume AAT. Berdasarkan hasil pengamatan, terlihat bahwa sebagian besar jenis substrat organik mampu meningkatkan pH lebih dari 6. Hanya substrat organik jenis ECG, SWG, dan TKS yang tidak mampu mencapai nilai pH 6. Hal ini diduga karena BPS tidak mampu memanfaatkan substrat organik tersebut secara optimal dikarenakan substrat organik tersebut belum terurai sempurna, sehingga masih berupa karbon kompleks. Dugaan ini diperkuat dengan hasil penelitian Yusron (2009) yang menunjukkan bahwa penggunaan limbah kulit kayu tidak mampu mendukung pertumbuhan bakteri pereduksi sulfat. Menurut Wijayanti (2018) komposisi utama kayu adalah selulosa, hemiselulosa dan lignin, dengan lebih dari 30% material tumbuhan tersusun oleh lignin, sehingga dapat memberikan kekuatan pada kayu terhadap serangan mikroorganisme. Lignin merupakan salah satu polimer fenilpropanoid yang sulit dirombak, oleh karena strukturnya heterogen dan sangat

kompleks (Devianti dan Tjahjaningrum, 2017). Tingginya kandungan lignin pada substrat organik menjadi penghambat fisik proses pelapukan. Abe, Branciforti dan Brienzo (2021) menjelaskan bahwa pada alam lingkungan anaerobik lignin dapat bertahan dari proses biodegradasi lebih lama karena oksigen bertindak sebagai katalisator dalam proses degradasi.

Tabel 6 mengindikasikan adanya BPS yang tumbuh dalam AAT. Penambahan substrat organik kotoran kandang ayam (PKA) dan campuran antara kotoran kandang ayam dengan tandan kosong kelapa sawit (PKATKS) terindikasi meningkatkan populasi dan aktivitas BPS terbaik. Hal ini dikarenakan tersedianya sumber karbon dan nutrisi yang cukup bagi pertumbuhan dan aktivitas BPS. Bakteri pereduksi sulfat pada penelitian tahap kedua ini berasal dari sedimen AAT yang pada tahap ke-1 berhasil diperoleh sebanyak $3,11\text{E}+02$ MPN-unit/BKT (Tabel 1). Pertumbuhan BPS setidaknya ditandai dengan 2 hal, yaitu adanya bau gas H_2S yang tercium seperti bau telur busuk akibat adanya reaksi reduksi sulfat dan warna hitam yang menempel di dinding toples (Gambar 3). Hal tersebut sesuai dengan reaksi reduksi sulfat, SO_4^{2-} direduksi oleh bakteri pereduksi sulfat menjadi S^{2-} , dan bereaksi dengan ion logam (Me) membentuk logam sulfida yang berwarna hitam dan tidak larut. Reaksi tersebut mengikuti persamaan berikut:



Tabel 6. Indikasi aktivitas BPS pada penambahan bahan organik pada AAT

Jenis Substrat organik	Tercium bau gas H_2S	Warna hitam di dinding toples
ECG	-	-
SWG	-	-
TKS	+	-
LPS	+	-
PKS	+	-
PKA	+	+
LPSTKS	+	-
PKSTKS	+	-
PKATKS	+	+



Gambar 3. FeS hasil reduksi sulfat pada dinding toples

H_2S dan $2H_2CO_3$ yang terbentuk selama proses reduksi SO_4^{2-} dalam larutan akan berkeselimbangan dengan senyawa H_2S , HS^- , S^{2-} , CO_2 , HCO_3^- dan CO_3^{2-} . Senyawa tersebut merupakan penyangga sehingga kemasaman larutan menjadi netral atau agak basa (Yusron, 2009). Corrosionpedia (2019) menambahkan bahwa BPS terdiri dari beberapa kelompok bakteri yang mereduksi sulfat menjadi sulfida dan menghasilkan karbonat yang meningkatkan pH.

Bioremediasi AAT dengan Penambahan Substrat organik dan Aktivitas Bakteri Pereduksi Sulfat (TAHAP II)

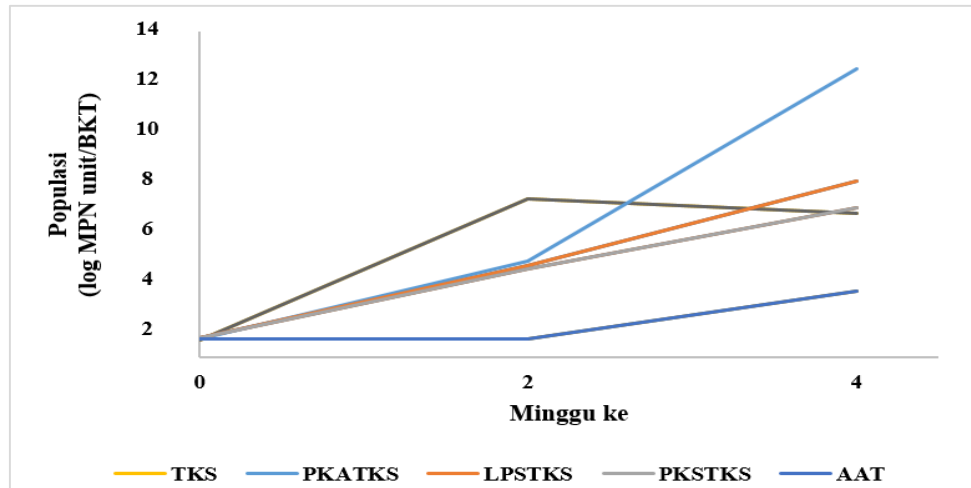
Bakteri Pereduksi Sulfat membutuhkan substrat organik sebagai sumber karbon dalam *treatment* AAT. Pada uji tahap kedua, dipilih empat jenis substrat organik yang paling baik dalam menaikkan pH AAT setelah dilakukan uji sidik ragam anova dan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan hasil tertera pada Tabel 4. Substrat organik tersebut terdiri dari tandan kosong kelapa sawit (TKS), campuran TKS dengan pupuk kandang ayam (PKATKS), campuran TKS dengan pupuk organik limbah pabrik susu (LPSTKS), dan campuran TKS dengan pupuk kandang sapi (PKSTKS).

Pada tahap ini, AAT yang sudah diproduksi sebelumnya dicampur dengan batuan PAF (*potential acid forming*) agar membentuk lumpur sebagai tempat tumbuhnya bakteri. Hasil pengamatan selama 30 hari diketahui pertumbuhan BPS mengalami peningkatan seperti ditunjukkan pada Gambar 4. Pertumbuhan BPS tertinggi terjadi pada perlakuan campuran TKS dengan pupuk kandang ayam (PKATKS) yang mencapai $2,41E+12$ MPN-unit/BKT pada pekan ke-4. Hal ini dikarenakan pupuk kandang ayam memiliki kandungan unsur hara yang lebih tinggi dibanding yang lain. Beberapa hasil penelitian aplikasi pupuk kandang ayam selalu memberikan respon tanaman yang terbaik

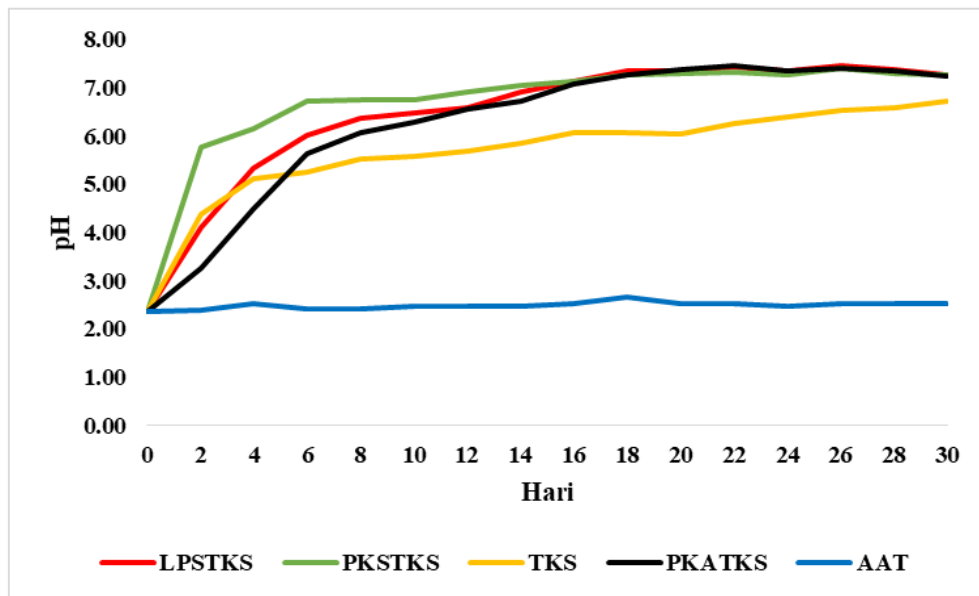
seperti pada penelitian Yuniarti, Solihin dan Putri (2020) dan Yuliana, Rahmadani dan Permanasari (2015). Hal ini disebabkan oleh kandungan P yang relatif lebih tinggi pada pupuk kandang ayam dan relatif lebih cepat terdekomposisi.

Secara umum, pertumbuhan BPS mengalami peningkatan selama 4 pekan pengamatan, kecuali pada perlakuan AAT yang diberi substrat organik tandan kosong kelapa sawit (TK) saja. Pada perlakuan tersebut pertumbuhan BPS mencapai $6,47E+06$ MPN-unit/BKT pada pekan ke-2 kemudian turun menjadi $1,55E+06$ MPN-unit/BKT pada minggu ke-4. Hal ini diduga karena BPS memanfaatkan langsung karbon dan unsur hara yang tersedia dari hasil dekomposisi tandan kosong kelapa sawit sebagai satu-satunya sumber karbon pada 2 pekan pertama, kemudian pada 2 pekan berikutnya sumber karbon tersebut sudah berkurang. Pencampuran substrat organik tandan kosong kelapa sawit dengan substrat organik lain menghasilkan 2 sumber karbon dan nutrisi yang menjadi sumber energi bagi BPS. Pada perlakuan campuran tersebut dapat dilihat terjadinya pertumbuhan diauksik (*diauxic growth*). Pertumbuhan diauksik adalah fenomena ketika populasi mikrob disajikan dengan dua sumber karbon, menunjukkan pertumbuhan eksponensial dua fase yang diselingi oleh *lag phase* (Chu dan Barnes, 2016). Hasil pertumbuhan BPS dengan berbagai sumber karbon memberikan informasi substrat organik terbaik yang dapat digunakan untuk melakukan bioremediasi AAT skala besar maupun untuk melakukan produksi BPS.

Berdasarkan Gambar 5 diketahui bahwa penambahan substrat organik mampu meningkatkan pH AAT mencapai 7,23 (PKATKS), 7,26 (LPSTKS; PKSTKS) dan 6,73 (TK) dari pH awal 2,36. Berdasarkan Peraturan Menteri Lingkungan Hidup Nomor 13 Tahun 2003 Tentang Baku Mutu Air Limbah Bagi Usaha dan atau Kegiatan Pertambangan Batubara, nilai pH yang diperbolehkan adalah 6–9, yang berarti pH AAT yang telah diberi perlakuan memenuhi baku mutu tersebut. Uji statistik menunjukkan nilai pH pada perlakuan PKATKS, LPSTKS, dan PKSTKS berada pada kelas yang sama, sedangkan perlakuan TK dan K berada pada kelas yang lebih rendah (Tabel 7).



Gambar 4. Pertumbuhan populasi BPS dengan penambahan substrat organik selama 4 pekan



Keterangan: PKATKS = Campuran TKS dengan pupuk organik kotoran kandang ayam; LPSTKS = Campuran TKS dengan pupuk organik limbah pabrik susu; PKSTKS = Campuran TKS dengan pupuk organik kotoran kandang sapi; TKS = Tandan kosong kelapa sawit; AAT = Kontrol

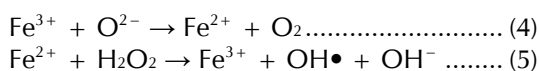
Gambar 5. Perubahan pH AAT selama 30 hari inkubasi.

Tabel 7. Perubahan sifat kimia air asam tambang sebelum dan sesudah perlakuan

Kode sampel	Parameter				
	pH	Fe (mg/L)	Mn (mg/L)	H ₂ S (mg/L)	SO ₄ (mg/L)
AAT	2,53c	110	0,7	<0,01	223
LPSTKS	7,26a	4,8	1	0,051	149
PKSTKS	7,26a	3	0,7	0,018	220
PKATKS	7,23a	3	0,7	0,073	355
TKS	6,73b	13	1,7	0,024	220

Keterangan: AAT = Sifat kimia air asam tambang sebelum perlakuan

Besi (Fe) dan Mangan (Mn) termasuk dalam kategori logam berat. Menurut Kamarati, Aipassa dan Sumaryono (2018) logam berat merupakan salah satu jenis zat polutan lingkungan yang paling umum dijumpai dalam perairan sehingga dapat berdampak buruk terhadap organisme perairan dan terhadap manusia yang menggunakan air tersebut. Kandungan Fe dan Mn dalam AAT merupakan hasil pencucian dari batuan PAF setelah dilakukannya penambangan batubara. Engwa *dkk.* (2019) menjelaskan bahwa Fe adalah logam berat yang berguna dalam tubuh manusia karena merupakan penyusun molekul biologis tertentu seperti hemoglobin dan terlibat dalam berbagai aktivitas fisiologis. Namun, dalam keadaan bebasnya, besi merupakan salah satu logam berat yang umumnya diketahui dapat menghasilkan radikal hidroksil (OH•) seperti berikut.



Radikal hidroksil (OH•) adalah radikal bebas paling umum yang dihasilkan oleh oksidasi besi. OH• mampu bereaksi dengan molekul biologis seperti protein, lipid dan DNA.

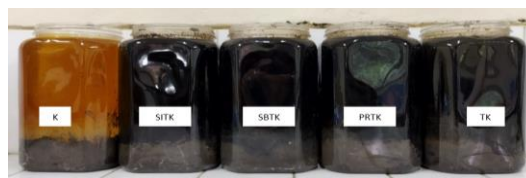
Berdasarkan hasil uji akhir AAT setelah perlakuan terdapat 3 perlakuan dengan kadar Fe terlarut yang memenuhi baku mutu seperti tertera pada Tabel 7, yaitu PKATKS, LPSTKS, dan PKSTKS dengan nilai masing-masing Fe 3 mg/L (PKATKS; PKSTKS) dan 4,8 (LPSTKS). Hasil penelitian menunjukkan perlakuan mampu menurunkan Fe terlarut 88,18 - 97,27 %. Mangan terlarut yang terdapat pada AAT seluruhnya memenuhi baku mutu. Menurut Peraturan Menteri Lingkungan Hidup Nomor 13 Tahun 2003 batas maksimum untuk Fe adalah 7 mg/L dan 4 mg/L untuk Mn.

Murraya, Taufiq-Spj dan Supriyanti (2018) menjelaskan bahwa limbah yang mengandung logam berat masuk ke dalam ekosistem perairan pantai dan laut melalui sungai. Logam berat berdampak buruk bagi biota perairan secara langsung maupun tidak dan berpotensi masuk ke dalam tubuh manusia melalui biota yang termakan tersebut. Logam berat Fe yang berlebih akan menimbulkan efek buruk bagi kesehatan manusia seperti hemokromatosis (jumlah zat besi yang berlebih pada tubuh). Penderita hemokromatosis menunjukkan akumulasi Fe di hati, limpa, jantung, dan

jaringan lainnya yang beresiko terserang kanker hati, jantung, dan berbagai penyakit lain. Konsumsi Fe dalam dosis tinggi akan merusak alat pencernaan secara langsung, lalu besi akan masuk ke dalam peredaran darah. Kerusakan sel juga meluas pada hati, jantung, dan organ lain, bahkan bisa berakhir pada kematian.

Mangan (Mn) dalam air menurut Febrina dan Ayuna (2014) dalam jumlah kecil (<0,5 mg/L) tidak menimbulkan gangguan kesehatan bahkan bermanfaat dalam menjaga kesehatan otak dan tulang, berperan dalam pertumbuhan rambut dan kuku, serta membantu menghasilkan enzim untuk metabolisme tubuh untuk mengubah karbohidrat dan protein membentuk energi yang akan digunakan, akan tetapi dalam jumlah besar (>0,5 mg/L) Mn bersifat neurotoksik apabila terminum. Gejala yang timbul berupa gejala susunan saraf, insomnia, kemudian lemah pada kaki dan otot muka sehingga ekspresi muka menjadi beku.

Terjadinya peningkatan nilai mangan (Mn) dan sulfat (SO₄) pada beberapa perlakuan disebabkan karena penambahan batuan PAF ke dalam AAT sebagai tempat tumbuhnya BPS mengandung MnSO₄ dan pirit (FeSO₄) dengan jumlah yang berbeda-beda yang kemudian teroksidasi selama perlakuan. Terbentuknya gas H₂S yang terukur pada AAT yang diberi substrat organik menunjukkan adanya aktivitas BPS. Hal ini didukung oleh data pada Tabel 6 yang menunjukkan adanya populasi BPS yang berhasil diperoleh dari sedimen AAT. Secara kualitatif, terbentuknya gas H₂S ditandai dengan adanya aroma seperti telur busuk. Aktivitas BPS juga terbukti dengan berubahnya warna AAT yang diberi substrat organik menjadi hitam seperti pada Gambar 6. Hal ini disebabkan oleh adanya ikatan antara Fe²⁺ dengan gas H₂S yang kemudian membentuk FeS berwarna hitam dan tidak larut.



Gambar 6. Perubahan warna AAT atas aktivitas BPS pada kontrol (K) dengan penambahan substrat organik SITK, SBTK, PTRK, dan TK, dibandingkan kontrol (K)

Penggunaan substrat organik dapat meningkatkan populasi dan aktivitas BPS dalam bioremediasi AAT berpotensi untuk diterapkan dalam skala yang lebih besar. Berdasarkan hasil penelitian, penggunaan substrat organik campuran TKS dengan substrat organik lain mampu meningkatkan pH hingga mencapai baku mutu yang ditentukan. Berdasarkan data Direktorat Jenderal Perkebunan, Indonesia sebagai negara yang memiliki produksi sawit mencapai 49,7 juta ton akan menghasilkan limbah sawit yang sangat banyak yang bisa dimanfaatkan untuk bioremediasi AAT.

Pemanfaatan BPS di Indonesia telah dilaporkan dalam beberapa hasil penelitian. Selain digunakan dalam bioremediasi AAT, BPS juga digunakan dalam bioremediasi lahan pasca tambang dan peningkatan kemampuan tumbuh tanaman. Sembiring dkk. (2016) menggunakan BPS untuk memperbaiki sifat kimia tanah bekas tambang batubara serta pengaruhnya terhadap pertumbuhan karet (*Hevea brasiliensis*) menunjukkan hasil yang positif mampu meningkatkan pH dan menurunkan sulfat serta meningkatkan tinggi tanaman karet. Begitu pula hasil penelitian Sudarno, Hanafiah dan Sembiring (2018) yang menunjukkan pemberian BPS mampu meningkatkan pH dan pertumbuhan tanaman jagung. Suryatmana dkk. (2021) menunjukkan hasil penambahan BPS meningkatkan tinggi tanaman akar Wangi (*Vetiveria zizanioides* L) hingga 83,43 cm dibanding kontrol yang memiliki tinggi 73,00 cm.

KESIMPULAN

Bakteri pereduksi sulfat ditemukan di semua ekosistem yang dijadikan sampel. Sedimen AAT memiliki kerapatan sel hingga $3,11 \times 10^2$ MPN-unit/BKT. Kerapatan sel BPS tertinggi diisolasi dari sedimen situ burung dengan nilai $1,26 \times 10^5$ MPN-unit/BKT. Sedimen AAT memiliki kandungan C-organik sebesar 17,67 %. Substrat organik yang digunakan pada penelitian ini memiliki nisbah C/N pada kisaran 9,23-89,50. Pemberian substrat organik sebanyak 7 dan 10% mampu meningkatkan pH AAT melebihi 6 pada hampir semua perlakuan. Pemberian substrat organik meningkatkan populasi dan aktivitas BPS dan menurunkan Fe sebesar 88,18 - 97,27 % dan

menaikkan pH sehingga berhasil memenuhi baku mutu yang ditetapkan (> 6).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada dosen pembimbing di IPB yang banyak memberi masukan dalam penelitian ini. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Direktur SEAMEO BIOTROP dan para staf yang sudah membantu kelancaran penelitian ini. Serta kepada teman-teman sejawat yang banyak memberi masukan, kontribusi ide dan tenaga.

DAFTAR PUSTAKA

- Abe, M. M., Branciforti, M. C. dan Brienzo, M. (2021) "Biodegradation of hemicellulose-cellulose-starch-based bioplastics and microbial polyesters," *Recycling*, 6(1), hal. 22. doi: 10.3390/recycling6010022.
- Ayangbenro, A. S., Olanrewaju, O. S. dan Babalola, O. O. (2018) "Sulfate-reducing bacteria as an effective tool for sustainable acid mine bioremediation," *Frontiers in Microbiology*, 9, hal. 01986. doi: 10.3389/fmicb.2018.01986.
- Badan Pusat Statistik (2019) *Produksi barang tambang mineral 2018-2020*, www.bps.go.id. Tersedia pada: <https://www.bps.go.id/indicator/10/508/1/produksi-barang-tambang-mineral.html> (Diakses: 10 Agustus 2021).
- Chu, D. dan Barnes, D. J. (2016) "The lag-phase during diauxic growth is a trade-off between fast adaptation and high growth rate," *Scientific Reports*, 6(1), hal. 25191. doi: 10.1038/srep25191.
- Corrosionpedia (2019) *Sulfate-reducing bacteria (SRB)*, www.corrosionpedia.com. Tersedia pada: <https://www.corrosionpedia.com/definition/1046/sulfate-reducing-bacteria-srb> (Diakses: 10 Agustus 2021).
- Dariah, A., Abdurachman, A. dan Subardja, D. (2010) "Reklamasi lahan eks-penambangan untuk perluasan areal pertanian," *Jurnal Sumberdaya Lahan*, 4(1), hal. 1-12.
- Devianti, O. K. A. dan Tjahjaningrum, I. T. D. (2017) "Studi laju dekomposisi serasah pada hutan pinus di kawasan wisata Taman Safari

- Indonesia II Jawa Timur," *Jurnall Sains dan Seni ITS*, 6(2), hal. E87–E91.
- Dewani, Z. (2015) *Kajian pemanfaatan biomassa daun kayu putih dan bakteri pereduksi sulfat dalam pengolahan air asam tambang*. Institut Pertanian Bogor.
- Dolla, A., Fournier, M. dan Dermoun, Z. (2006) "Oxygen defense in sulfate-reducing bacteria," *Journal of Biotechnology*, 126(1), hal. 87–100. doi: 10.1016/j.jbiotec.2006.03.041.
- Engwa, G. A., Ferdinand, P. U., Nwalo, F. N. dan Unachukwu, M. N. (2019) "Mechanism and Health Effects of Heavy Metal Toxicity in Humans," in *Poisoning in the Modern World - New Tricks for an Old Dog?* IntechOpen, hal. 1–23. doi: 10.5772/intechopen.82511.
- FDA (2020) *MPNcalc v1.2.0, US Food and Drug Administrations*. Tersedia pada: <https://mpncalc.galaxytrkr.org/> (Diakses: 10 Juni 2021).
- Febrina, L. dan Ayuna, A. (2014) "Studi penurunan kadar besi (Fe) dan mangan (Mn) dalam air tanah menggunakan saringan keramik," *Jurnal Teknologi Universitas Muhammadiyah Jakarta*, 7(1), hal. 35–44.
- Feng, K., Wang, X., Zhou, B., Xu, M., Liang, J. dan Zhou, L. (2021) "Hydroxyl, Fe²⁺, and Acidithiobacillus ferrooxidans jointly determined the crystal growth and morphology of schwertmannite in a sulfate-rich acidic environment," *ACS Omega*, 6(4), hal. 3194–3201. doi: 10.1021/acsomega.0c05606.
- GARD Guide (2009) *INAP: The international network for acid prevention*, *Gardguide.com*. Tersedia pada: http://gardguide.com/index.php?title=Main_Page (Diakses: 10 Juni 2021).
- Gautama, R. S. (2012) "Pengelolaan air asam tambang." Bandung: Institut Teknologi Bandung, hal. 34.
- Kamarati, K., Aipassa, M. dan Sumaryono, M. (2018) "Kandungan logam berat besi (Fe), timbal (Pb) dan mangan (Mn) pada air Sungai Santan," *Jurnal Penelitian Ekosistem Dipterokarpa*, 4(1), hal. 49–56.
- Kelly, C. A., Rudd, J. W. M., Furutani, A. dan Schindler, D. W. (1984) "Effects of lake acidification on rates of organic matter decomposition in sediments," *Limnology and Oceanography*, 29(4), hal. 687–694. doi: 10.4319/lo.1984.29.4.0687.
- Khan, S., Haq, F., Hasan, F., Saeed, K. dan Ullah, R. (2012) "Growth and biochemical activities of Acidithiobacillus thiooxidans collected from black shale," *Journal of Microbiology Research*, 2(4), hal. 78–83. doi: 10.5923/j.microbiology.20120204.03.
- Krekeler, D., Teske, A. dan Cypionka, H. (1998) "Strategies of sulfate-reducing bacteria to escape oxygen stress in a cyanobacterial mat," *FEMS Microbiology Ecology*, 25(2), hal. 89–96. doi: 10.1111/j.1574-6941.1998.tb00462.x.
- Kushkevych, I. (2020) "Isolation and purification of sulfate-reducing bacteria," in Blumenberg, M., Shaaban, M., dan Elgaml, A. (ed.) *Microorganisms*. London: IntechOpen, hal. 1–19. doi: 10.5772/intechopen.86786.
- Maluckov, B. S. (2017) "The catalytic role of Acidithiobacillus ferrooxidans for metals extraction from mining - metallurgical resource," *Biodiversity International Journal*, 1(3), hal. 109–119. doi: 10.15406/bij.2017.01.00017.
- Murray, Taufiq-Spi, N. dan Supriyanti, E. (2018) "Kandungan logam berat besi (Fe) dalam air, sedimen dan kerang hijau (Perna viridis) di perairan Trimulyo, Semarang," *Journal of Marine Research*, 7(2), hal. 133–140.
- Nielsen, G., Coudert, L., Janin, A., Blais, J. F. dan Mercier, G. (2019) "Influence of organic carbon sources on metal removal from mine impacted water using sulfate-reducing bacteria bioreactors in cold climates," *Mine Water and the Environment*, 38(1), hal. 104–118. doi: 10.1007/s10230-018-00580-3.
- Phyo, A. K., Jia, Y., Tan, Q., Sun, H., Liu, Y., Dong, B. dan Ruan, R. (2020) "Competitive growth of sulfate-reducing bacteria with bioleaching acidophiles for bioremediation of heap bioleaching residue," *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(8), hal. 2715. doi: 10.3390/ijerph17082715.
- Prianto, F. A. (2016) *Rekayasa pengolahan air asam tambang secara pasif menggunakan biomassa serbuk gergaji, kotoran ayam dan bakteri pereduksi sulfat*. Institut Pertanian Bogor.
- Sánchez-Andrea, I., Stams, A. J. M., Amils, R. dan Sanz, J. L. (2013) "Enrichment and isolation of acidophilic sulfate-reducing bacteria from Tinto River sediments," *Environmental Microbiology Reports*, 5(5), hal. 672–678. doi: 10.1111/1758-2229.12066.

- Sembiring, Y. V., Andriyanto, M., Siagian, N., Widyati, E. dan Azwir, A. (2016) "Isolasi bakteri pereduksi sulfat untuk memperbaiki sifat kimia tanah bekas tambang batubara dan pengaruhnya terhadap karet (*Hevea brasiliensis*) di polibeg," *Jurnal Penelitian Karet*, 34(2), hal. 165–174. doi: 10.22302/ppk.jpk.v34i2.223.
- Sudarno, Y., Hanafiah, A. S. dan Sembiring, M. (2018) "Uji potensi isolat bakteri pereduksi sulfat (BPS) terhadap perubahan kemasaman tanah sulfat masam dan pertumbuhan tanaman jagung dengan kondisi air tanah berbeda di rumah kaca," *Jurnal Online Agroekoteknologi*, 6(3), hal. 515–525.
- Suryatmana, P., Sandrawati, A., Putra, I. N. dan Kamaluddin, N. N. (2021) "Potensi bakteri pereduksi sulfat dan jenis bahan organik dalam pengolahan air asam tambang menggunakan system constructed wetland tanaman akar wangi (*Vetiveria zizanioides* L)," *soilrens*, 18(2), hal. 36–43. doi: 10.24198/soilrens.v18i2.32075.
- Tanimu, M. I., Ghazi, T. I. M., Harun, R. M. dan Idris, A. (2014) "Effect of carbon to nitrogen ratio of food waste on biogas methane production in a batch mesophilic anaerobic digester," *International Journal of Innovation, Management and Technology*, 5(2), hal. 116–119.
- Taroreh, F. L., Karwur, F. F. dan Mangimbulude, J. C. (2015) "Reduksi sulfat oleh bakteri termofilik dari air panas Sarongsong Kota Tomohon," in *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan."* Yogyakarta: UPN "Veteran" Yogyakarta, hal. F3(1-5).
- Widyati, E. (2006) *Bioremediasi tanah bekas tambang batubara dengan sludge industri kertas untuk memacu revegetasi lahan*. Institut Pertanian Bogor.
- Widyati, E. (2011) "Formulasi inokulum bakteri pereduksi sulfate yang diisolasi dari sludge industri kertas untuk mengatasi air asam tambang," *Tekno Hutan Tanaman*, 4(3), hal. 119–125.
- Wijayanti, W. (2018) "Identifikasi komposisi kimia tar kayu mahoni untuk biofuel pada berbagai temperatur pirolisis," *Jurnal Rekayasa Mesin*, 9(3), hal. 183–190. doi: 10.21776/ub.jrm.2018.009.03.5.
- Yuliana, Rahmadani, E. dan Permasari, I. (2015) "Aplikasi pupuk kandang sapi dan ayam terhadap pertumbuhan dan hasil tanaman jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) di media gambut," *Jurnal Agroteknologi*, 5(2), hal. 37–42. doi: 10.24014/ja.v5i2.1353.
- Yuniarti, A., Solihin, E. dan Arief Putri, A. T. (2020) "Aplikasi pupuk organik dan N, P, K terhadap pH tanah, P-tersedia, serapan P, dan hasil padi hitam (*Oryza sativa* L.) pada inceptisol," *Kultivasi*, 19(1), hal. 1040–1046. doi: 10.24198/kultivasi.v19i1.24563.
- Yusron, M., Lay, B. W., Fauzi, A. M. dan Santosa, D. A. (2009) "Isolasi dan identifikasi bakteri pereduksi sulfat pada area pertambangan batubara Muara Enim, Sumatera Selatan," *Jurnal Matematika Sains dan Teknologi*, 10(1), hal. 26–35. doi: 10.33830/jmst.v10i1.569.2009.
- Yusron, M. (2009) *Pengolahan air asam tambang menggunakan biofilm bakteri pereduksi sulfat*. Insitut Pertanian Bogor.

