

## Desain Bioreaktor Pengolahan Limbah Air Asam Tambang Menggunakan Sedimen Wetland Sebagai Sumber Inokulum Mikroba Bakteri Pereduksi Sulfat

*Arnol, Arbianus Semba, Yuliana Sari, Andi Syarifah Ulil Asmi*

*Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin*

*Email: arnol.robert@yahoo.co,.id*

**Abstract:** Acid mine drainage is one of the dangerous wastes produced by mining activities because it contains sulfuric acid and heavy metals of high grade. This study aims to determine the influence of mangrove sediments in reducing heavy metals, increasing pH, reducing levels of sulphate and increasing the number of microbes. The results showed that the distribution of mangrove sediments in the treatment of P1, P2 and P3 on AMD could increase the pH of AMD successively from 2,22, 2,14 and 2,16 to 7,21,7,22 and 7,13 after 30 day. Mangrove sediment was also able to reduce sulphate concentration from sulphate concentration at AMD within 30 days from level of 383,25 ppm, 408,34 ppm and 405,15 ppm to 225,51 ppm, 181,34 ppm and 211,32 ppm. Mangrove sediment was able to decrease Pb, Cu, Fe metal content on the first day as much 1.5493 ppm, 1.87 ppm and 2.20 ppm to 0 ppm, 0.0431 ppm and 1.2231 ppm. The study also showed that the amount of microbes in the sediments continued to increase on the 30th day  $1.2 \times 10^{12}$  CFU/mL,  $1.9 \times 10^{12}$  CFU/mL and  $4.6 \times 10^{10}$  CFU/mL.

**Keywords:** Sediment, Acid Mine Drainage, Sulphate Reduction Bacteria

**Abstrak:** Air asam tambang merupakan salah satu limbah berbahaya yang dihasilkan oleh aktivitas pertambangan karena mengandung asam sulfat dan logam-logam berat berkadar tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh sedimen bakau dalam mereduksi logam berat, meningkatkan pH, menurunkan kadar sulfat dan meningkatkan jumlah mikroba. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian sedimen bakau pada perlakuan P1, P2 dan P3 pada AAT dapat meningkatkan pH AAT secara berturut-turut dari 2,22, 2,14 dan 2,16 menjadi 7,21, 7,22 dan 7,13 setelah 30 hari. Pemberian sedimen bakau juga mampu menurunkan kadar sulfat dari konsentrasi sulfat pada AAT dalam waktu 30 hari dari kadar awal berturut-turut sebesar 383,25 ppm, 408,34 ppm dan 405,15 ppm menjadi 225,51 ppm, 181,34 ppm dan 211,32 ppm. Pemberian sedimen bakau mampu menurunkan kadar logam Pb, Cu, Fe pada hari pertama sebanyak 1,5493 ppm, 1,87 ppm dan 2,20 ppm menjadi 0 ppm, 0,0431 ppm dan 1,2231 ppm. Penelitian ini juga menunjukkan bahwa jumlah mikroba pada sedimen terus mengalami kenaikan pada hari ke-30 yaitu  $1,2 \times 10^{12}$  CFU/mL,  $1,9 \times 10^{12}$  CFU/mL dan  $4,6 \times 10^{10}$  CFU/mL.

**Kata Kunci:** Sedimen, Air Asam Tambang, Bakteri Pereduksi Sulfat

### 1. Pendahuluan

Negara Indonesia mempunyai berbagai macam industri termasuk salah satunya adalah industri pertambangan yang mengalami perkembangan pesat, karena Indonesia memiliki potensi alam sebagai lahan pertambangan. Namun persoalan

mendasar dari kegiatan pertambangan ini adalah adanya batuan limbah dan tailing yang dihasilkan dapat mencemari lingkungan (Soehoed, 2005).

Salah satu limbah pertambangan yang berbahaya adalah cairan asam sulfat yang dapat menurunkan pH air di bawah 3 dan melarutkan ion - ion logam. Asam sulfat yang terbentuk dari kegiatan pertambangan dikenal dengan air asam tambang (AAT) atau acid rock drainage. Karena sifatnya asam, dapat mematikan ikan dan organisme lain jika air tercemar AAT. Di darat akan menghambat pertumbuhan tanaman karena juga mengubah pH tanah menjadi asam. Selain itu, AAT juga melarutkan logam-logam berat, sehingga dengan demikian akan menimbulkan pencemaran logam pada lingkungan perairan.

Selamaini penanggulangan AAT dengan secara kimiawi dan fisik sehingga tidak efisien karena dapat menimbulkan zat pencemar yang baru. Oleh karena itu secara biologis penanggulangan AAT dapat menggunakan teknik bioremediasi dengan memanfaatkan bakteri pereduksi sulfat (BPS) yang terdapat melimpah secara alami dalam sedimen.

Bakteri pereduksi sulfat dapat diperoleh dari substrat-substrat berlumpur seperti pada sedimen. Di dalam sedimen terjadi aktivitas biokimia akibat adanya aktivitas mikroba pada lingkungan tersebut, secara alami dapat melepaskan kontaminan seperti logam berat. Cara ini dilakukan dalam bioreaktor yang tidak diinokulasikan lagi oleh mikroba dari luar karena secara alami sudah ada mikroba didalamnya dan menetap pada sedimen wetland (May, 2007).

Adanya BPS yang bersumber dari sedimen bakau ini diharapkan dapat mengatasi limbah air asam tambang dengan indikator kenaikan pH yang menandakan adanya peningkatan populasi bakteri pereduksi sulfat dan penurunan kadar sulfat yang disertai dengan penurunan kadar logam berat pada air.

Kajian bioteknologi untuk pengolahan air asam tambang (AAT) merupakan langkah yang baik dan bijaksana, karena akan mengurangi pencemaran lingkungan perairan seminimal mungkin. Salah satu alternatif yang banyak dikaji sekarang adalah pengolahan AAT secara biologis dengan menggunakan bakteri pereduksi sulfat (BPS) atau Sulphate Reduktion Bacteria (SRB) untuk mendekontaminasi sulfat. Selain itu, BPS juga mampu menurunkan konsentrasi logam melalui proses pengendapan logam.

Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan penelitian mengenai pembuatan bioreactor pengolahan limbah air asam tambang dengan memanfaatkan sedimen sebagai sumber inokulum bakteri BPS yang akan diterapkan dalam bioreaktor.

## **2. Metode Penelitian**

### **2.1 Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat gelas seperti cawan petri (Pyrex), erlenmeyer (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), botol pengencer, bunsen, osebulat, oseulus, object glass, spoit, botol sampel, pH meter (Orion), inkubator (Heraeus), neraca ohaus (Ohaus), oven (Heraeus), autoklaf (All American), enkas dan Laminar Air Flow (LAF) (E-Scientific), mikroskop cahaya dan spektrofotometer serapan atom (SSA) (Buck Scientific 205). Wadah untuk pembuatan bioreaktor pengolahan limbah AAT.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain sampel sedimen bakau, pupuk kompos, air asam tambang sintetik, media Nutrien Agar (NA) sintetik, media SIM, media TSIA, media MR-VP, alkohol, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, asam Sulfat (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), pewarna ungu Kristal, yodium, etanol 95%, safranin, phenoltalein, Larutan KOH (0,1 N), Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-HgO, HCl dan NaOH.

## 2.2 Prosedur kerja

### 2.2.1 Sterilisasi Alat

Semua alat-alat yang akan digunakan disterilkan terlebih dahulu, alat-alat gelas seperti erlenmeyer dan botol pengencer serta alat-alat plastik yang tidak tahan panas disterilkan dengan menggunakan autoklaf dengan suhu 1210C, dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Sedangkan cawan petri disterilkan dengan menggunakan oven dengan suhu 1800C, selama 2 jam.

### 2.2.2 Pengambilan Sampel

Air asam tambang (AAT) sintetik diperoleh dari akuades ditambah dengan asam sulfat hingga pH menjadi 2-4 kemudian dimasukkan dalam wadah 1000 mL yang telah disterilkan. Sedimen bakau diperoleh dari Kera - Kera pada celupan 10-15 cm.

### 2.2.3 Pembuatan Perlakuan

Pengolahan AAT dilakukan dalam bioreaktor dengan perlakuan sebagai berikut:

P1= AAT + sedimen bakau + kompos (60 % + 20 % + 20%) + logam Pb 5 ppm

P2= AAT + sedimen bakau + kompos (60 % + 20 % + 20%) + logam Cu 5 ppm

P3= AAT + sedimen bakau + kompos (60 % + 20 % + 20%) + logam Fe 5 ppm

P4= AAT + logam berat Pb 5 ppm tanpa penambahan sedimen dan kompos

P5= AAT + logam berat Cu 5 ppm tanpa penambahan sedimen dan kompos

P6= AAT + logam berat Fe 5 ppm tanpa penambahan sedimen dan kompos

P7= AAT (100%) sebagai kontrol tanpa sedimen, kompos, dan logam berat

Sedimen dan kompos dimasukkan kedalam wadah perlakuan dan dimasukkan AAT 1000 mL secara perlahan-lahan pada dinding wadah, kemudian wadah tersebut ditutup rapat. Sedimen dan kompos dimasukkan kedalam wadah perlakuan dan dimasukkan AAT satu liter secara perlahan-lahan pada dinding wadah, kemudian dimasukkan logam berat 5 ppm lalu wadah tersebut ditutup rapat. Wadah perlakuan diinkubasi selama 30 hari pada suhu ruangan tergantung waktu keberhasilan proses pengolahan. Selama inkubasi, pengamatan dilakukan setiap 10 hari, pengamatan dimulai pada hari ke-0. Parameter- parameter yang diamati selama inkubasi adalah sebagai berikut:

- Reduksi sulfat menggunakan metode metode gravimetri (Greenberg et all, 1992).
- Pengamatan kenaikan pH dengan pH meter (Greenberg et all., 1992).
- Total mikroorganisme dengan metode Standar plate count (SPC) (Jutono, 1992).
- Pengukuran konsentrasi logam berat timbal (Pb), Cupper (Cu), dan Besi (Fe) dengan menggunakan metode Atomic Absorption Spectrofotometry (AAS) atau metode Spektrofotometri Serapan Atom (SSA).

### 2.2.4 Pengukuran kadar sulfat

Pengukuran kadar asam sulfat pada sampel air asam tambang dilakukan dengan metode Gravimetri:

- Larutan dibuat sulfat dengan menambahkan pelarut yang sesuai
- Selanjutnya larutan tersebut ditambahkan 0,3 mL HCl pekat dan BaCl<sub>2</sub> setetes demi setetes sampai tetesan BaCl<sub>2</sub> tidak menghasilkan endapan
- Larutan selanjutnya dipanaskan, kemudian ditambahkan BaCl<sub>2</sub>, penambahan dihentikan jika larutan tidak membentuk endapan lagi.
- Endapan dari hasil sebelumnya disaring menggunakan kertas waltman, endapan yang terbentuk dicuci menggunakan air panas hingga dapat

dinyatakan bahwa semua sulfat telah mengendap. Untuk memastikan endapan bersih, maka ditambahkan larutan  $\text{AgNO}_3$  0,1 M pada filtrat hingga tidak terbentuk warna putih lagi (jernih).

- Endapan yang sudah disaring tersebut dimasukan kedalam cawan kemudian dipijarkan 130-150°C kemudian ditimbang
- Selanjutnya dilakukan perhitungan  
Berat endapan = (berat cawan + endapan) - berat cawan kosong  
Berat  $\text{SO}_4^{2-}$  = berat endapan

### 2.2.5 Pengukuran pH

Tahap - tahap pengukuran pH yaitu terlebih dahulu dilakukan kalibrasi pada pH meter dengan menggunakan larutan buffer pH 7 kemudian diaktifkan hingga stabil sekitar 15 - 30 menit. Elektroda kemudian dibilas dengan aquadest dan mengeringkannya dengan kertas tissue. Selanjutnya elektroda dicelupkan beberapa saat hingga diperoleh pembacaan yang stabil kemudian hasil sampel pH tersebut dicatat (Apriantono, 1989).

### 2.2.6 Menghitung total mikroba dengan metode Standard Plate Count

- Pengenceran, AAT diencerkan secara desimal tergantung derajat kontaminasi bahan
- Pembuatan media NA (APHA, 1985), komposisi : Ekstrak Beef 3g, Pepton 5 g dan agar 15g/1000 mL. disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.
- Penanaman, inkubasi dan perhitungan jumlah koloni. Diambil setiap 1 mL air asam tambang pada pengenceran 10<sup>-5</sup>, 10<sup>-6</sup>, 10<sup>-7</sup>, 10<sup>-8</sup>, 10<sup>-9</sup>, dan 10<sup>-10</sup>.

### 2.3 Karakterisasi Bakteri

Karakterisasi bakteri dilakukan dengan metode pengecatan gram dan uji-uji biokimia seperti uji SIM (Sulfida Indol Motility), uji TSIA (Triple Sugar Iron Agar), uji MR (Methyl Red), uji VP (Voges Proskauer), dan uji katalase.

### 2.4 Analisis Logam Berat Timbal (Pb), Tembaga (Cu), Besi (Fe).Komponen

Analisis logam berat dapat dilakukan dengan spektrofotometrik serapan atom (SSA) (Hutagalung, 2011). Penentuan kadar logam dalam sampel dilakukan dengan penganalisaan alat Spektrofotometer Serapan Atom (SSA). Dikalibrasi alat dan penetapan sampel. Larutan sampel diukur selama penetapan sampel, diperiksa secara periodik apakah nilai standar konstan. Kurva standar dibuat untuk masing-masing logam (nilai absorbansi/emisi x konsentrasi logam m/mL). Untuk mendapatkan konsentrasi logam berat yang sebenarnya digunakan rumus:

$$K \text{ sebenarnya} = \frac{KA \cdot xV \cdot P}{B \cdot K}$$

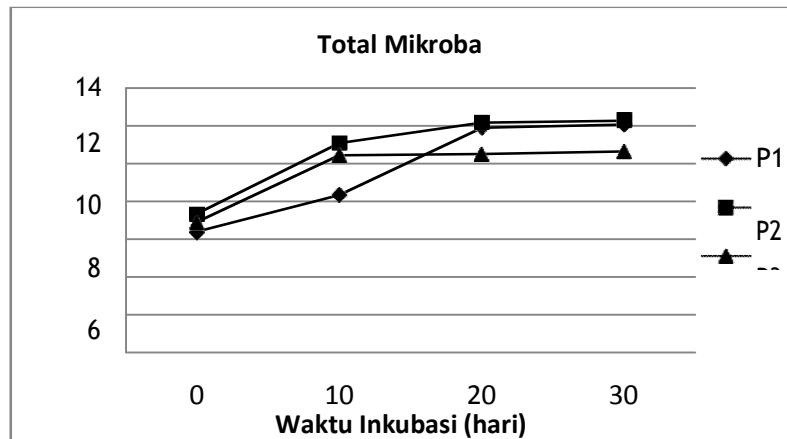
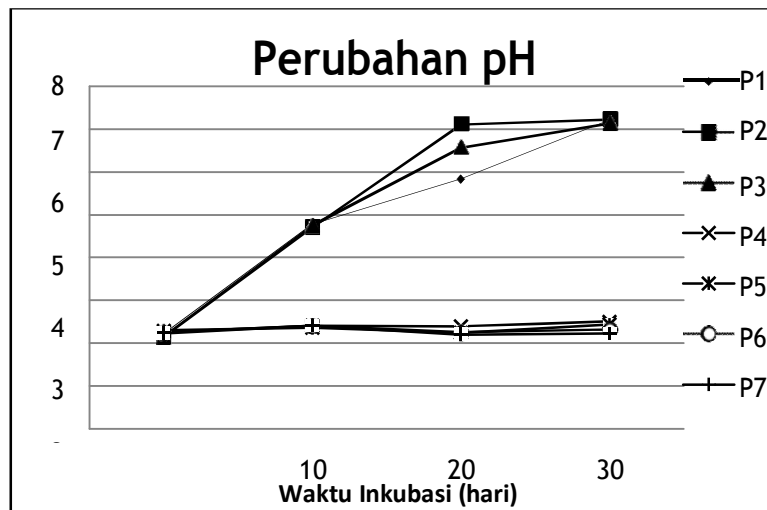
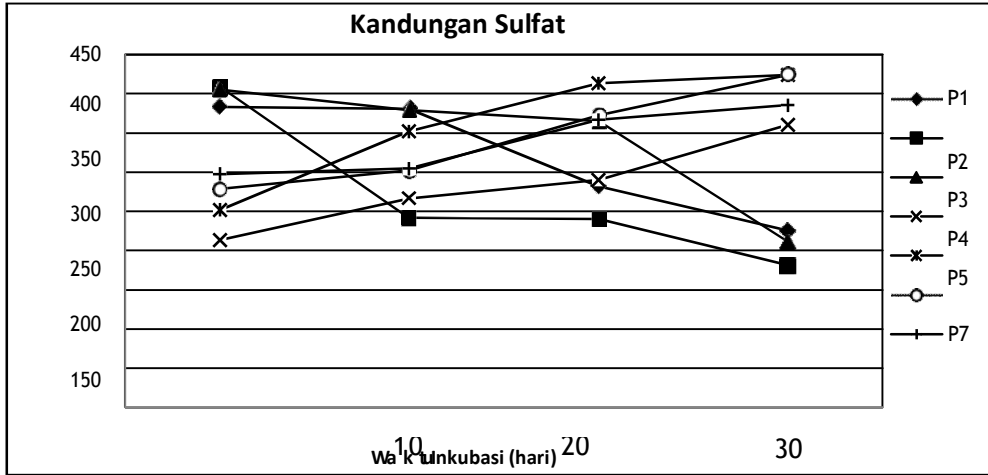
### 2.5 Analisis Data

Data pertumbuhan mikroba diukur secara visual dengan metode SPC. Untuk pengukuran sulfat dengan spektrofotometer visibel dan pH diukur dengan pH meter dalam setiap priode tertentu sebagai indikator perubahan tingkat keasaman AAT. Pengukuran ion - ion logam terlarut pada AAT dan presipitasi logam pada sedimen sebelum dan sesudah proses pengolahan dilakukan dengan metode AAS atau spektrofotometri serapan atom. Hal ini terkait dengan peningkatan pH akan

mengendapkan logam terlarut selama proses pengolahan. Data yang diperoleh direkapitulasi dan ditabulasi disajikan dalam bentuk tabel.

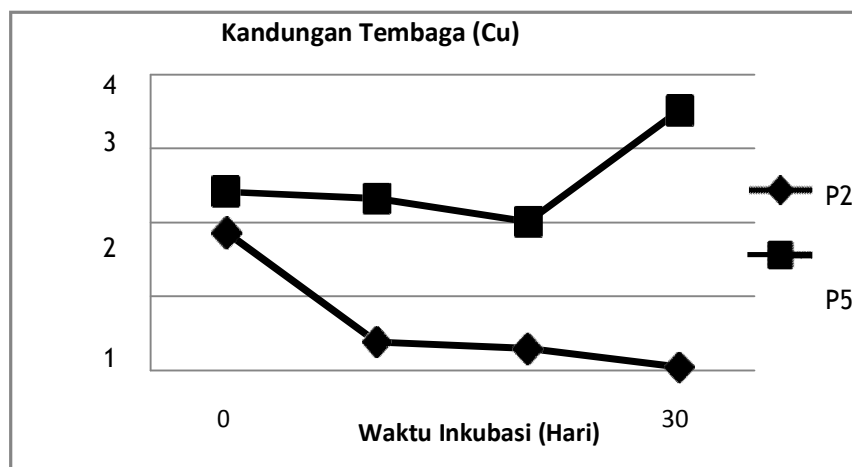
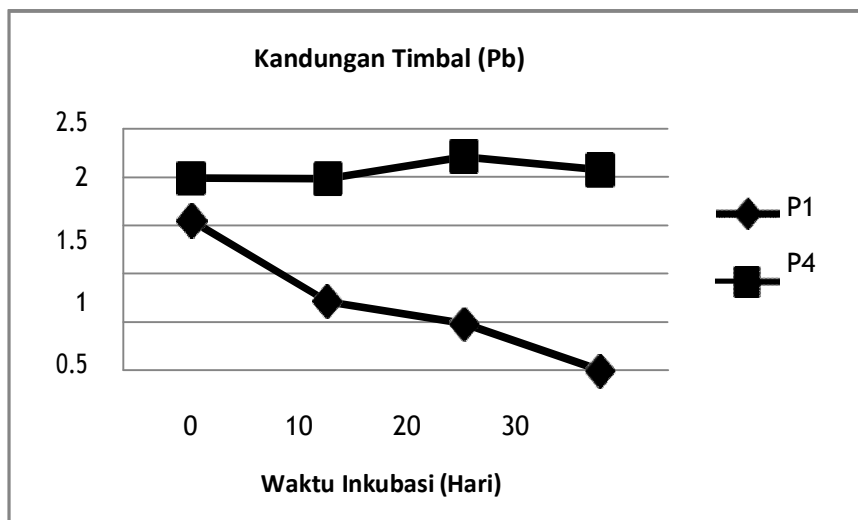
### 3. Hasil dan Pembahasan

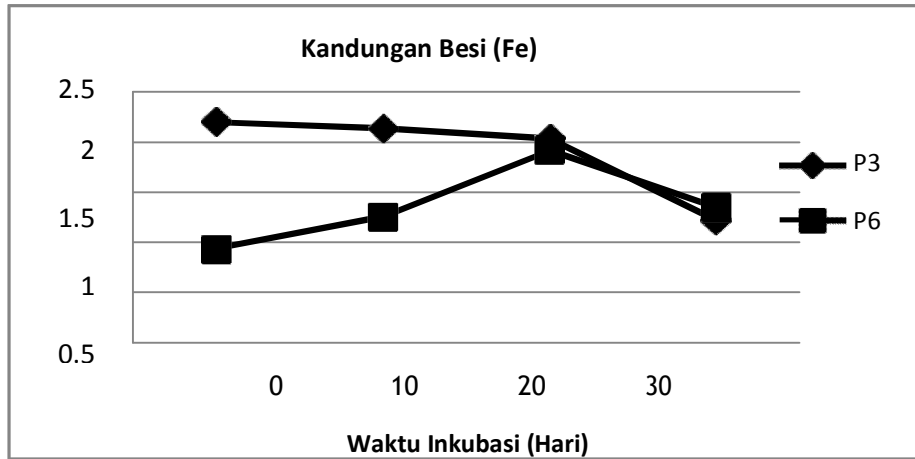
#### 3.1 Hasil Pengukuran Kadar Sulfat, pH, dan Total Mikropa



Berdasarkan data yang diperoleh pada pengukuran kadar sulfat, maka nilai kadar awal sulfat pada perlakuan yang ditambahkan sedimen bakau yaitu P1, P2 dan P3 secara berturut-turut sebesar 383,25 ppm, 408,34 ppm dan 405,15 ppm, terus mengalami penurunan menjadi sebesar 225,51 ppm, 181,34 ppm dan 211,32 ppm hingga masa inkubasi selama 30 hari. Pada hasil pengukuran pH, bioreaktor yang ditambahkan sedimen bakau dan kompos (P1, P2 dan P3) memiliki pH awal sebesar 2,22, 2,14 dan 2,16 yang bersifat sangat asam dan terus mengalami kenaikan secara terus-menerus hingga hari ke-30 menjadi sebesar 7,21, 7,22 dan 7,13 yang artinya pH air sudah netral. Peningkatan pH yang terjadi pada perlakuan P1, P2 dan P3, seiring dengan menurunnya kadar sulfat, disebabkan oleh aktivitas bakteri pereduksi sulfat yang mereduksi sulfat menjadi sulfida dan bikarbonat yang kemudian berpengaruh terhadap kenaikan pH dan membentuk sulfida logam tak terlarut. Kenaikan nilai pH tersebut berkaitan dengan proses reduksi  $SO_4^{2-}$  menjadi  $H_2S$ .  $H_2SO_4$  yang merupakan asam kuat berkurang dan berubah menjadi asam lemah (Voordouw, 1995). Dari grafik dapat dilihat bahwa jumlah mikroba pada sedimen terus mengalami kenaikan pada hari ke-30 yaitu  $1,2 \times 10^{12}$  CFU/mL,  $1,9 \times 10^{12}$  CFU/mL dan  $4,6 \times 10^{10}$  CFU/mL.

### 3.2 Hasil Pengukuran Kadar Logam Berat Pb, Cu, dan Fe





Berdasarkan data yang diperoleh dari hasil pengukuran kadar Pb pada AAT dengan perlakuan sedimen bakau, pada P1 kadar Pb pada hari ke-0 sebesar 1,5493 ppm mengalami penurunan yang tajam hingga mencapai 0 ppm pada hari ke-30. Sedangkan pada P4 kadar Pb hari ke-0 sebesar 1,992 ppm dan naik sampai hari ke-30 mencapai 2,077 ppm. Kadar Cu pada perlakuan yang ditambahkan sedimen bakau (P2) mengalami penurunan secara terus menerus mulai dari 1,87 ppm pada hari ke-0 menjadi 0,0431 ppm pada hari ke-30. Hasil pengukuran kadar Fe, pada P3 yang ditambahkan sedimen bakau dan kompos terjadi penurunan kadar Fe mulai dari 2,2 ppm pada hari ke-0 menjadi 1,2213 ppm pada hari ke-30.

### 3.3 Hasil Pengukuran Kadar Logam Berat Pb, Cu, dan Fe

Isolat	Morfologi			UjiKatalase	Uji MR	Uji VP	UjiKatalase
	Bentuk	Warna	Gram				
1B	Coccus	Ungu	Positif	-	-	-	+
2B	Basil	Merah	Negatif	+	-	-	+
3B	Basil	Ungu	Positif	-	-	+	+
4B	Coccus	Merah	Negatif	-	-	+	+
5B	Basil	Ungu	Positif	+	+	-	+
6B	Basil	Merah	Negatif	-	+	-	+
7B	Basil	Merah	Negatif	-	-	-	+
8B	Coccus	Ungu	Positif	-	+	-	+

Isolat	Uji TSIA ( <i>Triple Sugar Iron Agar</i> )			
	Slant	Butt	Gas	H <sub>2</sub> S
1B	Merah	Merah	-	+
2B	Merah	Merah	-	+
3B	Merah	Merah	-	+
4B	Merah	Merah	-	+
5B	Merah	Merah	-	+
6B	Merah	Merah	-	+
7B	Merah	Merah	-	+
8B	Merah	Merah	-	+

Ket:

+ :positifuji

- : negative uji

Hasil isolasi dan karakterisasi bakteri pereduksi sulfat yang dari sedimen bakau diperoleh 8 isolat bakteri yang menunjukkan karakteristik yang berbeda berdasarkan warna, tepi, bentuk koloni, elevasi dan berbagai uji-uji karakterisasi bakteri.

#### 4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian penggunaan sedimen bakau sebagai sumber inokulum bakteri pereduksi sulfat dalam reduksi logam berat timbal (Pb), tembaga (Cu) dan besi (Fe) dan sulfat pada air asam tambang (AAT) dapat disimpulkan bahwa Pemberian sedimen bakau mampu mereduksi kadar timbal (Pb), tembaga (Cu) dan besi (Fe) pada hari ke-0 sebesar 1,5493 ppm, 1,87 ppm dan 2,2 ppm turun menjadi 0 ppm, 0,0431 ppm dan 1,2213 ppm setelah 30 hari masa inkubasi. Pemberian sedimen bakau pada P1, P2, dan P3 dapat menurunkan kadar sulfat pada AAT dari kadar awal 383,25 ppm, 408,34 ppm dan 405,15 ppm menjadi 225,51 ppm, 181,34 ppm dan 211,32 ppm setelah hari ke-30. Pada P1, P2, dan P3 juga terjadi peningkatan pH dari pH awal 2,22, 2,14 dan 2,16 menjadi 7,21, 7,22, 7,13 dengan masa inkubasi 30 hari. Pemberian sedimen bakau pada P1, P2 dan P3 mampu meningkatkan jumlah populasi bakteri yang diinkubasi selama 30 hari dan menunjukkan pertumbuhan optimal pada hari ke-30 yaitu 1,2x10<sup>12</sup> CFU/mL, 1,9 x 10<sup>12</sup> CFU/mL dan 4,6 x 10<sup>10</sup> CFU/mL. Diperoleh juga 8 isolat bakteri bakteri pereduksi sulfat berdasarkan warna, tepi, elevasi.

#### Daftar Pustaka

- Atlas, R.M. dan R. Bartha. 1981. *Microbial Ecology : Fundamental and Applications*. Addison Wesley publishing company.Inc. Philipines.
- Geenberg, A.E., P.R. Trussell and L. S. Clesceri. 1992. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. American Public Health Assosiation . Washington.
- Jutono. 1992. *Penuntun Mikrobiologi Umum*. Gadjah Mada Press. D.I Yogyakarta
- Lisama, H.M., dan Suzuki.I. 1987. Bacterial leaching of sulphide ore by T. Ferooxidans and T. Thiooxidans. I. Shake flask studies: Biotechnology and Bioengineering. V. 32, p. 110-116.
- Lovley, D.R., dan E.J.P. Phillips. 1992. Reducing of uranium by *Desulfovibrio desulfuricans*. *Appl. Environ. Microbiol.* 58:580-856
- May, L. M. 2007. *Acid Mine Drainage*. Idaho International Engineering and Enviromental Laboratory. www.Inel.gov(1 Maret 2016).
- Mine Environment Neutral Drainage. (MEND). 1990. *Assessment of Existing Natural Wetlands Affected by Low pH, Metal Contaminated Seepages (Acid Mine Drainage)*. MEND Report No.3. Natural Resources Canada. Ottawa.



- Palar, H., 1994. Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat. Rineka Cipta. Jakarta.
- Rumapea, N., 2009. Penggunaan Kitosan dan Polyaluminium Chlorida (PAC) Untuk Menurunkan Kadar Logam Besi (Fe) dan Seng (Zn) Dalam Air Gambut. Medan. Pascasarjana. Universitas Sumatera Utara.
- Soehoed, A.R. 2005. Tambang dan Pengelolaan Lingkungannya. Aksara Karunia, Jakarta.
- Suyasa, I. W. B. 2002. Peningkatan pH dan Pengendapan Logam Berat Terlarut Air Asam Tambang (AAT) dengan Bakteri Pereduksi Sulfat dari Ekosistem Air Hitam Kalimantan. Disertasi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Vordouw, G. 1995. Minireview, The Genus *Desulvibrio*. The Centennial. *Appl. Environ. Microbiol.* 61 : 2813 – 2819.
- Zaid, I.S.G dan W.Verstrate, 1986. Sulfate Reduction Relative to Methane Production in Hight-Rate Anaerobic Digestion. *Microbical Aspect. App. Environ microbial.* 51 : 580 – 587.