

Isolation and Selection of Sulfuric Acid Bacteria from Kejayan River as Bio-oxidation Agents

Isolasi dan Seleksi Bakteri Penghasil Asam Sulfat dari Sungai Kejayan sebagai Agen Bio-oksidasi

Fahimatul Ulya

Institut Teknologi dan Sains Nahdlatul Ulama Pasuruan, Jl. Raya Warung Dowo,
Pohjentrek - Kab. Pasuruan, Jawa Timur, 67714, Indonesia

*Corresponding author: fahim.ulya@gmail.com

Diterima 28 Mei 2022 dan disetujui 30 Juni 2022

Abstrak

Penanganan masalah lingkungan yang tercemar oleh logam dapat dilakukan menggunakan metode Bio-oksidasi yang dianggap lebih ramah lingkungan dan lebih ekonomis. Bakteri penghasil asam sulfat dari proses oksidasi sulfur menjadi asam sulfat merupakan salah satu agen Bio-oksidasi, bakteri ini mampu diisolasi dari area masam atau yang bersifat asam. Sungai Kejayan Pasuruan dialiri oleh berbagai limbah industri yang mengandung logam serta bersifat asam. Penelitian ini bertujuan mendapatkan bakteri penghasil asam sulfat dari sungai Kejayan. Isolasi dan seleksi bakteri penghasil asam sulfat dari tanah sungai Kejayan menggunakan medium tiosulfat. Isolat murni diperoleh menggunakan metode *streak plate* tipe goresan kuadran. CuFeS_2 digunakan pada proses Bio-oksidasi, kadar asam sulfat diukur menggunakan metode turbidimetri, serta kadar [Cu] dan [Fe] pada media biooksidasi diuji menggunakan AAS (*Atomic Absorption Spectroscopy*). Isolat K.2 terseleksi sebagai bakteri penghasil asam sulfat dengan perolehan kadar sulfat $[\text{SO}_4^{2-}]$ tertinggi 13,9 ppm pada jam ke-48. Bakteri ini berpotensi sebagai agen biooksidasi logam Cu dan Fe.

Kata Kunci: Bakteri Asam Sulfat, Biooksidasi, Limbah Asam.

Abstract

Biooxidation method is considered more environmentally friendly and more economical to be able to overcome environmental problems polluted by metals. Sulfuric acid-producing bacteria is one of the biooxidizing agents, these bacteria can be isolated from acidic soil or acidic areas. The Kejayan Pasuruan River is drained by various industrial acidic wastes that contain metals. This study aims to obtain sulfuric acid-producing bacteria from the Kejayan river. Isolation and selection of sulfuric acid-producing bacteria from Kejayan river soil using thiosulfate medium. Pure isolates were obtained using the streak plate quadrant. In the biooxidation process using CuFeS_2 , sulfuric acid levels were measured using the turbidimetric method, the levels of [Cu] and [Fe] in the biooxidation medium were tested using AAS (Atomic Absorption Spectroscopy). K.2 isolate was selected as sulfuric acid producing bacteria with the highest sulfate concentration $[\text{SO}_4^{2-}]$ 13.9 ppm at 48 hours. These bacteria have the potential as biooxidizing agents for Cu and Fe metals.

Keywords: Sulfuric acid-producing bacteria, Biooxidation, Acidic waste.



Jurnal Pembelajaran dan Biologi Nukleus is Licensed Under a CC BY SA [Creative Commons Attribution-Share a like 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/). doi: <https://doi.org/10.36987/jpbn.v8i2.2928>

PENDAHULUAN

Kawasan khusus industri PT. PIER berada di Kecamatan Rembang Kabupaten Pasuruan, area ini telah menyediakan infrastruktur yang memadai termasuk pengolahan limbah (Kominfo, 2021). Selain kawasan industri tersebut, terdapat wilayah Kabupaten Pasuruan yang diperuntukkan sebagai pembangunan industri, sehingga aliran sungai di sekitarnya terdampak oleh limbah yang dihasilkan. Sungai Kejayan merupakan salah satu sungai yang terdampak oleh limbah industri sekitar. Limbah industri dan domestik umumnya merupakan pencemar logam berat pada sungai (Yudo, 2018).

Salah satu industri yang memberikan dampak lingkungan yang disebabkan oleh limbah di sungai Kejayan adalah industri yang bergerak di bidang penyamakan kulit. Terdapat 3 tahapan utama dalam proses penyamakan kulit, salah satunya adalah pengasaman (*pickling*) yang bertujuan agar kulit tidak bengkak saat direaksikan dengan obat penyakan, proses ini bersifat asam dengan pH sekitar 3,0-3,5. Selain proses tersebut masih banyak lagi proses penyamakan yang menggunakan bahan kimia berbahaya bagi lingkungan. Secara umum nilai pH limbah campuran tiap proses penyamakan kulit adalah 3,6 (Fachria *et al.*, 2020).

Proses penyamakan kulit melibatkan berbagai aktivitas fisik, kimiawi dan biologi. Cemar mikroba pada lingkungan limbah penyamakan kulit merupakan dampak aktivitas biologi, berbagai mikroba dapat hidup di area tersebut terutama mikroba yang mampu bertahan hidup pada kondisi lingkungan tercemar dan pH rendah. Ulya *et al.*, (2018) mampu mengisolasi bakteri pengoksidasi CuFeS_2 dan FeS yang juga menghasilkan asam sulfat dari tanah masam Kalimantan. Umumnya bakteri pengoksidasi logam Fe dan S yang menghasilkan asam sulfat berasal dari limbah pertambangan (Vargas *et al.*, 2020) (Lopes *et al.*, 2020) (Ahn *et al.*, 2019) (Mubarok *et al.*, 2017) (Zhao *et al.*, 2013) (Lindström *et al.*, 1992) dan area kawah (Praminati *et al.*, 2018) serta bakteri yang digunakan umumnya adalah *Acidithiobacillus ferrooxidans* (Zhao *et al.*, 2013) (Liu *et al.*, 2017). Ulya *et al.*, (2018) membuktikan bahwa selain pada area pertambangan dan kawah dapat ditemukan bakteri penghasil asam sulfat dengan karakter tanah pertumbuhannya bersifat asam. Bakteri pengoksidasi logam Fe dan S ini adalah agen pada proses biooksidasi yang merupakan proses pengolahan limbah logam ramah lingkungan dan lebih ekonomis.

Selama ini penelitian pemanfaatan limbah industri penyamakan kulit umumnya terbatas pada bakteri penghasil enzim protease (Said & Likadja, 2012). Isolasi bakteri penghasil asam sulfat selama ini dilakukan pada area-area pertambangan dan area dengan keasaman sangat rendah, namun isolasi bakteri penghasil asam sulfat dari area sungai yang terdampak limbah industri penyamakan kulit belum dilakukan. Maksud dan tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan bakteri lokal penghasil asam sulfat dari tanah area sungai Kejayan sebagai agen biooksidasi.

METODE

Pengambilan Sampel dan Pembedahan P. pardalis

Tanah pinggiran sungai Kejayan Kabupaten Pasuruan digunakan sebagai sampel dalam penelitian ini. Pengambilan sampel tanah dilakukan pada dua titik sebagai variabel. Sampel dimasukkan dalam plastik *ziplock* steril dan disimpan pada suhu 5°C untuk langsung dikerjakan di laboratorium.

Media Bakteri

Media pertumbuhan Isolat bakteri menggunakan hasil modifikasi Ulya *et al.*, (2018) yakni medium thiosulfat dengan kandungan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 7,85g, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,1g, KH_2PO_4 3g, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,13g, NH_4Cl 0,1g, $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0,014g dan glukosa 5g dalam 1000mL, pH larutan 4,2 (adjust dengan HCl pekat), dan untuk medium agar thiosulfat dilakukan penambahan 15g/L bacto agar.

Isolasi dan Pemurnian Bakteri

Pengenceran terhadap dua jenis tanah (titik A, titik B) merupakan tahap awal dalam isolasi bakteri, dimulai dengan menimbang masing-masing sebanyak 1g tanah diencerkan dalam 9mL aquades steril (10^0), kemudian satu seri pengenceran 10^{-1} – 10^{-5} dibuat dari larutan 10^0 . Sebanyak 100 μL masing-masing pengenceran dilakukan *spreading/pour plate* pada medium agar thiosulfat yang mengandung antifungi dan diinkubasi pada suhu 32 $^\circ\text{C}$ sampai teramati pertumbuhan koloni bakteri.

Tahap selanjutnya adalah pemurnian isolat, koloni bakteri yang tumbuh titik-titik terpisah dipindah ke media agar thiosulfat baru dan dilakukan pemurnian dengan metode *streak plate* tipe goresan kuadran sampai diperoleh isolat murni.

Seleksi Bakteri

Satu ose isolat murni yang didapat diinokulasikan ke dalam media thiosulfat cair dan diinkubasi dalam shaker pada suhu ruang selama 24 jam dengan kecepatan 125rpm. Di akhir masa inkubasi dilakukan uji kandungan thiosulfat. Isolat terpilih untuk proses Bio-oksidasi selanjutnya adalah yang dapat menurunkan kadar thiosulfat.

Uji Kadar Tiosulfat

Pengecekan kadar thiosulfat menggunakan metode titrasi iodometri modifikasi (Kamil *et al.*, 2008). Sebanyak 10 mL larutan iodin 0,025 N ditambah aquades 10 mL, 5 mL sampel dan 2 mL HCl 6 N kemudian ditetesi indikator amilum dan dititrasi dengan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,025 N hingga warna biru memudar dan hilang. Kadar ion thiosulfat ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) dihitung menggunakan rumus:

$$[\text{S}_2\text{O}_3^{2-}] \text{ (mg/L)} = \frac{[(AxB)-(Cx D)] \times 1,121 \cdot 10^5}{\text{mL sampel}}$$

Keterangan,

A: Volume larutan iodin yang terpakai (mL)

B: Normalitas larutan iodin

C: Volume $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ yang terpakai

D: Normalitas larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

Biooksidasi CuFeS₂

25 mL *preculture* dengan komposisi media CuFeS_2 5,85 g/L (pengganti $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 7,85 g/L), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,13 g/L, KH_2PO_4 3 g/L, $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0,014g/L, NH_4Cl 0,1 g/L, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,1 g/L dan glukosa 5 g/L. Satu ose bakteri dimasukkan dalam media *preculture* dan dishaker, setelah 24 jam 5 mL inokulum dimasukkan pada 100 mL media oksidasi (komposisi sama dengan media *preculture*) dan diinkubasi 150 rpm pada suhu 37 $^\circ\text{C}$ selama 24 jam, media kontrol (abiotik) adalah tanpa penambahan inokulum. Tahap ini dilakukan pengecekan kadar asam sulfat, OD dan pH serta uji

konsentrasi Cu dan Fe total pada filtrat. Pengecekan OD media menggunakan kertas saring whattman no.1 dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer VWR UV-1600PC di λ 600 nm.

Uji Kadar Asam Sulfat

Kadar asam sulfat pada media biooksidasi diukur menggunakan metode turbidimetri, larutan standar sulfat yang digunakan adalah K_2SO_4 dengan konsentrasi 0-10 mM. Sampel uji adalah media biotik maupun abiotik disaring dengan kertas *Whattman* no. 41, dan disentrifugasi dingin dengan kecepatan 6000 rpm selama 20 menit. Sedangkan sampel kontrol (blangko) menggunakan 1 mL dH_2O .

Satu mL reagen conditioning (150 g NaCl, 60 mL HCl pekat, 100 mL gliserol, 200 mL etanol 95% dalam 1 L dH_2O) ditambah 0,06 g $BaCl_2$ dan mL sampel kemudian divortex 30 detik, setelah itu absorbansinya diukur dengan spektrofotometer VWR UV-1600PC pada λ 420 nm. Kadar asam sulfat yang dihasilkan isolat dalam sampel dihitung rumus.

$$[SO_4^{2-}] = [A] - [B]$$

Keterangan

[A] : Kadar $[SO_4^{2-}]$ pada sampel biotik

[B] : Kadar $[SO_4^{2-}]$ pada sampel abiotik

Cat Gram Bakteri

Suspensi bakteri diambil secara aseptis dan diletakkan di atas object glass lalu difiksasi untuk karakterisasi gram bakteri, lalu ditetesi cat gram A (*crystal violet*) diamkan selama 1 menit, dicuci menggunakan aquades dan dikeringkan. Langkah selanjutnya ditetesi cat gram B (mordan lugol's iodine) dibiarkan selama 1 menit, dicuci menggunakan aquades dan dikeringkan. Cat gram C (alkohol) kemudian ditetaskan sebagai cat peluntur dan dibiarkan selama 15 detik dan dicuci dengan aquades. Selanjutnya ditetesi cat gram D (safranin) dibiarkan selama 1 menit dibilas menggunakan aquades dan dikeringkan. Hasil pengecatan gram diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran kuat serta ditetesi minyak imersi.

Identifikasi gram bakteri juga menggunakan cat gram KOH 3%. KOH 3% ditetaskan pada object glass, ditambahkan isolat bakteri dan diaduk selama 1 menit. [Erkmen \(2021\)](#) Bakteri gram negatif akan menyebabkan suspensi menjadi kental seperti lendir

Uji Kadar Cu dan Fe

Kadar Cu dan Fe total yang terlarut pada media biooksidasi dicek menggunakan metode AAS (*Atomic Absorption Spectroscopy*).

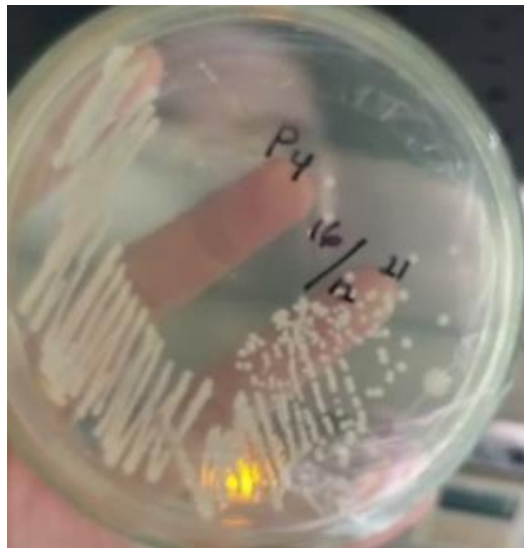
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Sampel tanah sungai Kejayan terdiri dari dua jenis yaitu tanah dinding sungai pada kedalaman 5-10 cm dari permukaan tanah (titik A), dan tanah pinggiran sungai pada kedalaman 5-10 cm dari permukaan tanah (titik B). Kedua jenis tanah tersebut kemudian

dilakukan pengenceran dan diratakan pada media agar tiosulfat dengan metode pour plate.

Pada titik A dan B teramati mulai tumbuh koloni bakteri pada hari ke 3, Koloni bakteri tersebut dimurnikan kembali dengan metode streak plate tipe goresan kuadran, dari hasil tersebut didapat 6 isolat murni, 2 isolat dari titik A dan 4 isolat dari titik B. Isolat-isolat murni tersebut dicek kadar tiosulfat sebagai tahap seleksi selanjutnya. Kurva pertumbuhan dan kultivasi isolat murni menggunakan media cair tiosulfat. Isolat yang dapat menurunkan kadar tiosulfat diseleksi untuk tahap selanjutnya, Tiosulfat ($S_2O_3^{2-}$) diasumsikan mengalami oksidasi menjadi sulfat (SO_4^{2-}) walaupun dalam konsentrasi yang sangat rendah sehingga konsentrasi tiosulfat akan terus menurun pada kadar tertentu jika bakteri tersebut dapat melakukan oksidasi tiosulfat. Asumsi lainnya tiosulfat diduga sebagai senyawa metastabil yang mengalami dekomposisi pada sistem leaching.



Gambar 1. Hasil isolasi bakteri metode *streak plate* tipe goresan kuadran

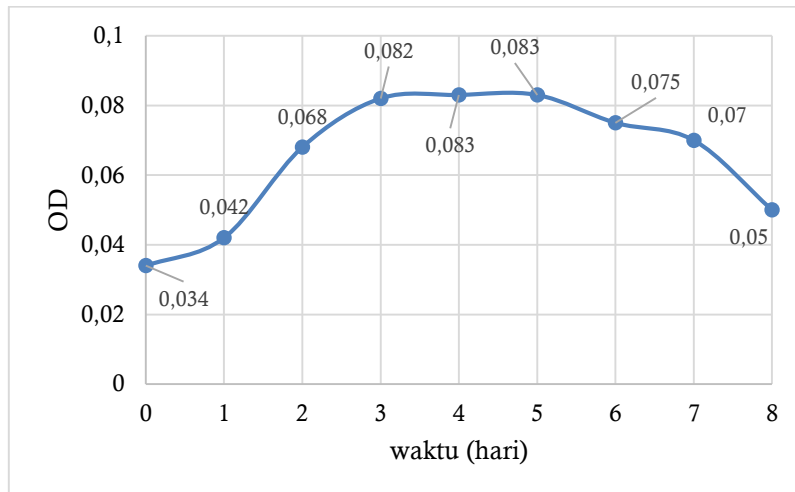
Dari uji kadar tiosulfat didapat hanya ada 1 isolat (isolat K.2) yang terseleksi untuk tahap selanjutnya. Langkah pertama pada proses Biooksidasi terhadap isolat K.2 adalah pembuatan media *preculture* (media adaptasi) dan *main culture* menggunakan $CuFeS_2$ 5,85 g/L sebagai ganti $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ 7,85g. Isolat K.2 diinkubasi selama 24 jam dalam media *preculture* kemudian dipindahkan ke dalam media *main culture*.

Tabel 1. Kadar tiosulfat terukur pada seluruh isolat selama 7 hari

Isolat	Penurunan kadar $[S_2O_3^{2-}]$ (mg/L)
K.1	0
K.2	0,019
K.3	0,001
K.4	0,001
K.5	0
K.6	0,002

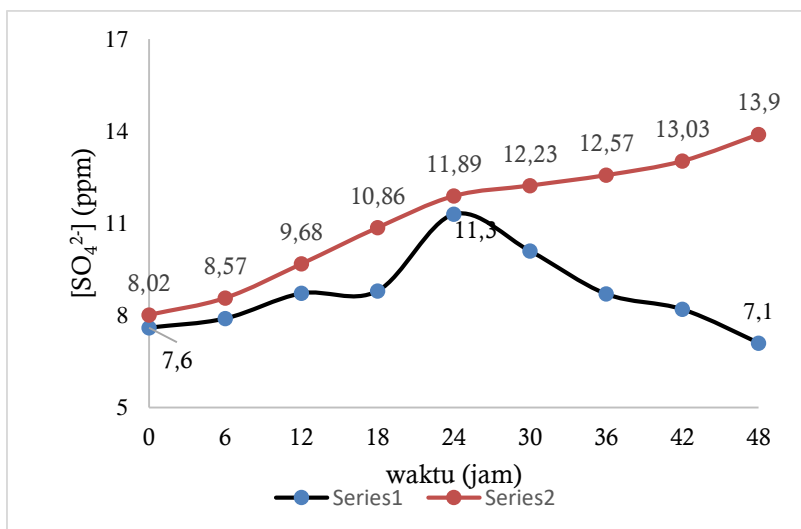
Pada kurva pertumbuhan yang ditunjukkan oleh gambar 2, isolat K.2 mengalami fase stasioner pada hari ke-3 hingga ke-5, fase kematian pada hari ke-6. Tahap ini juga

dilakukan pengecekan kadar keasaman (pH) terhadap media *main culture*. Berdasarkan gambar 3 kurva pH masa biooksidasi, isolat R.1 dapat terus menurunkan pH media menjadi 3,5 pada hari ke-9 sedangkan pada isolat R.4 pH terendah dicapai pada hari ke-8 namun pada hari ke-10 mengalami sedikit kenaikan pH menjadi 4,51 maka isolat R.1 yang terseleksi untuk diuji kadar sulfat (SO_4^{2-}) serta uji kadar Cu dan Fe menggunakan metode AAS.



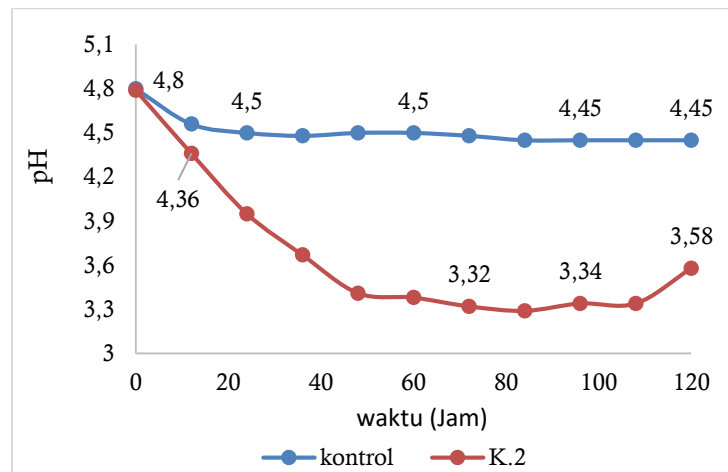
Gambar 2. Kurva pertumbuhan isolat pada media biooksidasi

Uji kadar sulfat (SO_4^{2-}) pada media abiotik (kontrol, tidak mengandung isolat K.2) dan media biotik (mengandung isolat K.2) mengacu pada larutan standar sulfat K_2SO_4 dengan konsentrasi 0-10 mM. Gambar 3 menunjukkan bahwa pada kondisi biotik (series 2) terukur hampir lebih tinggi dibanding kondisi abiotik (series 1), hal tersebut juga sebanding dengan pH yang terukur pada media biooksidasi (gambar 4).



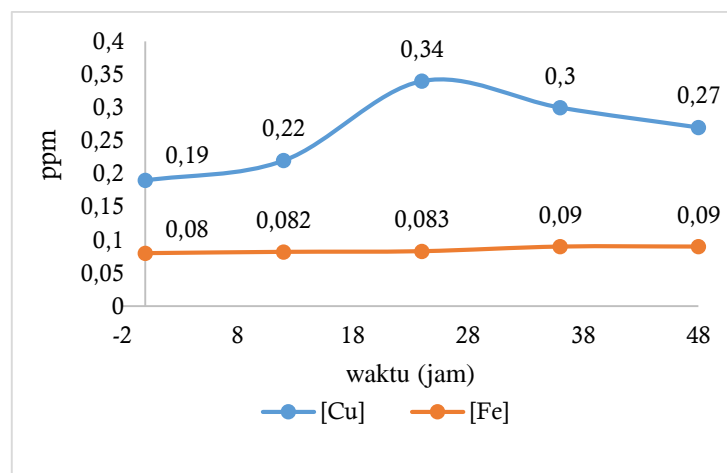
Gambar 3. Kadar sulfat [SO_4^{2-}] pada media biotik dan abiotik

Pengecekan kadar sulfat dilakukan tiap enam jam sekali selama 48 jam. Pada jam ke-0 terukur sebesar 8,2 ppm, dan terus meningkat hingga jam ke-48 sebesar 13,9 ppm. Selaras dengan pH yang terukur pada jam ke-0 adalah 4,8 untuk kontrol dan 4,78 untuk abiotik yang kemudian tergambar terus menurun hingga jam ke-84 pada media biotik dan mengalami sedikit peningkatan pada jam ke-96 hingga jam ke-120. Sedangkan pada media kontrol pH yang terukur hampir konstan di angka 4,5. Hal tersebut dapat diasumsikan bahwa penurunan pH dapat disebabkan oleh adanya kenaikan kadar asam sulfat (H₂SO₄) yang dihasilkan oleh isolat K.2. kadar sulfat tertinggi diperoleh pada jam ke-48 sebesar 13,9 ppm.



Gambar 4. pH media biotik dan abiotik

Berdasarkan gambar 5 diketahui nilai kadar [Cu] total tertinggi diperoleh pada jam ke-24 sebesar 0,34 ppm, sedangkan [Fe] total tertinggi 0,09 ppm pada jam ke-36 dan 48. Dalam media Biooksidasi senyawa CuFeS₂ mengalami dekomposisi melibatkan proses pelepasan dan penangkapan beberapa ion yang tergambar pada persamaan (Mubarok et al., 2017):



Gambar 5. Kadar [Cu] dan [Fe] total pada media biooksidasi

Berdasarkan pengecatan gram yang dilakukan pada isolat K.2 menunjukkan warna kemerahan, hal tersebut mengindikasikan bahwa isolat adalah bakteri gram negatif. Penggunaan KOH 3% juga menghasilkan suspensi kental seperti lendir, hal ini membuktikan bahwa isolat K.2 adalah bakteri gram negatif.

Pembahasan

Sungai Kejayan merupakan area yang dialiri limbah dari berbagai industri sekitar. Proses yang terjadi selama di industri melibatkan proses kimia dan biologi, bahan-bahan mineral yang terkandung di dalamnya menghasilkan tingkat keasaman pada dinding tanah sungai Kejayan Pasuruan. Bakteri yang dapat hidup di daerah tersebut mengindikasikan bahwa tahan terhadap lingkungan ekstrim (pH rendah) serta tahan terhadap logam hasil limbah industri. (Lingga & Afriyansyah, 2020) menyatakan bahwa resistensi bakteri terhadap Cu asal sedimen laut yang terpapar logam berat dapat dimanfaatkan sebagai agen bioremediasi cemaran logam berat di lingkungan perairan. Hal tersebut menunjukkan karakteristik bakteri yang resisten terhadap lingkungan ekstrim tempat asalnya dapat dijadikan sebagai agen bioremediasi atau biooksidasi. Sehingga isolat bakteri K.2 yang berhasil diisolasi dari sungai kejayan mengindikasikan bahwa resisten terhadap lingkungan dengan keasaman tinggi.

Karakteristik sel bakteri serta mekanisme seluler yang terjadi dalam sel bakteri dapat menjadi faktor penentu terhadap kemampuannya dalam bertahan hidup atau beradaptasi pada lingkungan ekstrim. Isolat K.2 memiliki karakteristik yang dapat hidup di lingkungan asam (sungai Kejayan), serta dapat beradaptasi dalam media Bio-oksidasi yang mengandung logam Cu dan Fe yang ditunjukkan oleh gambar 2.

Substrat utama yang digunakan dalam media isolasi dan pertumbuhan adalah Natrium Tiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), senyawa tiosulfat umum digunakan sebagai substrat dikarenakan secara energi sangat menguntungkan bagi bakteri pengoksidasi sulfur menjadi sulfat sesuai dengan ketersediaan jumlah zat pengoksidasinya (Pokorna & Zabranska, 2015) yang ditunjukkan oleh persamaan 2, serta sifatnya yang mudah larut dalam air dibanding dengan senyawa sulfur lain dan lebih stabil terhadap rentang pH, serta dalam proses degradasinya membentuk koloidal sulfur (Robertson & Kuenen, 2006b). Sehingga pada media cair pertumbuhan isolat K.2 teramati kekeruhan seiring pertambahan waktu inkubasi. Proses konversi tiosulfat menjadi sulfat melibatkan sistem multi enzim, penurunan pH juga terjadi akibat pembentukan produk intermediet yang bersifat asam. Sehingga pada media biotik yang menunjukkan karakter penurunan pH dan penurunan kadar tiosulfat didapat pada isolat K.2.

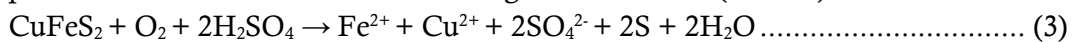


Berdasarkan komposisi garam mineral pada media isolasi dan pertumbuhan, isolat K.2 merupakan bakteri kemolitotrof. Kelompok bakteri ini diketahui merupakan kelompok organisme yang mengubah senyawa sulfur pada tanah dan sedimen (Robertson & Kuenen, 2006b). Bakteri kemolitotrof umumnya memanfaatkan energi yang berasal dari senyawa sulfur anorganik tereduksi, dalam penelitian ini yakni senyawa Natrium Tiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$). CO_2 umumnya digunakan sebagai sumber karbon dalam pertumbuhannya (Pokorna & Zabranska, 2015), namun sumber karbon utama yang digunakan untuk isolat K.2 adalah senyawa glukosa.

(Tang *et al.*, 2009) menyatakan bahwa jenis bakteri pengoksidasi sulfur kemolitoautotrof memperoleh energi dari oksidasi senyawa sulfur tereduksi namun tidak dapat mengikat molekul CO₂.

Pewarnaan gram pada isolat K.2 menunjukkan jenis bakteri gram negatif. Hal tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Saavedra *et al.*, 2020) dengan menggunakan bakteri *Acidithiobacillus ferrooxidans* yang merupakan bakteri gram negatif sebagai bakteri pengoksidasi besi. Bakteri tersebut telah umum digunakan sebagai agen biooksidasi dan bioremediasi pada lingkungan tercemar logam ataupun lingkungan ekstrim seperti kondisi lingkungan dengan keasaman rendah. (Pokorna & Zabranska, 2015) juga menyatakan bahwa bakteri pengoksidasi-sulfur dikenal sebagai bakteri kemolitoautotrof tak berwarna pengoksidasi-sulfur (*colorless sulfur-oxidizing bacteria*) dengan karakteristik sebagai bakteri gram negatif. Kata sifat “tak berwarna” menandakan kurangnya fotopigmen yang dimiliki oleh golongan bakteri ini (Robertson & Kuenen, 2006a)

Pada media Bio-oksidasi, kandungan substrat Na₂S₂O₃.5H₂O diganti dengan CuFeS₂ 5,85 g/L. Isolat K.2 dianggap telah mampu beradaptasi dengan substrat yang mengandung sulfur (senyawa sulfur tereduksi), sehingga nantinya proses biooksidasi dapat mendekomposisi CuFeS₂ berdasarkan persamaan reaksi (3) melalui pengukuran kadar Cu dan Fe total. Berdasarkan gambar 3 pada kondisi biotik (mengandung isolat K.2) kadar sulfat [SO₄²⁻] lebih tinggi dibanding pada kondisi abiotik (tidak ada isolat K.2/kontrol) dengan diiringi nilai pH keduanya (gambar 4) yang menunjukkan bahwa pH kondisi biotik lebih rendah dibanding kondisi abiotik (kontrol).



Dekomposisi CuFeS₂ menghasilkan sulfur (S⁰) dengan melibatkan H⁺ sebagai oksidator/donor elektron dan senyawa sulfat bertindak sebagai aseptor elektron pada sisi reduksi di siklus metabolisme sulfur (Robertson & Kuenen, 2006a). Ion Fe²⁺ selanjutnya akan dioksidasi oleh bakteri menjadi Fe³⁺. S⁰ akan dioksidasi menjadi H⁺ dan SO₄²⁻, hal inilah yang diasumsikan pada kenaikan kadar SO₄²⁻ di lingkungan biotik dibandingkan dengan lingkungan abiotik yang menyebabkan pH kondisi biotik lebih rendah dibanding abiotik. Selain sulfur (S⁰) dekomposisi CuFeS₂ juga menghasilkan Cu dan Fe. (Zhu *et al.*, 2019) melaporkan bahwa penambahan material karbon mampu mempercepat proses dekomposisi.

CuFeS₂ baik dalam media *bioleaching* ataupun media kimia (tanpa adanya bakteri pengoksidasi sulfur). Berdasarkan kadar [Cu] dan [Fe] total pada media biooksidasi terlihat proses dekomposisi terhadap Cu dan Fe berjalan lambat dan tidak terlalu signifikan mengalami kenaikan. Hal ini mengindikasikan bahwa isolat K.2 tetap mampu melakukan Bio-oksidasi pada CuFeS₂ meski tanpa penambahan material karbon pada media Bio-oksidasi. Sehingga isolat K.2 berpotensi sebagai agen Bio-oksidasi terhadap logam Cu dan Fe.

KESIMPULAN

Bakteri pengoksidasi sulfur atau penghasil asam sulfat dapat diisolasi pada area bukan pertambangan. Pada tanah sungai Kejayan Pasuruan ditemukan bakteri yang menghasilkan asam sulfat dengan kadar tertinggi 13,9 ppm pada jam ke-48. Bakteri ini

berpotensi sebagai agen Bio-oksidasi logam Cu dan Fe. Rekomendasi untuk tahap selanjutnya adalah sequencing isolat K.2, BLAST NCBI dan *Phylogenetic tree* sehingga nantinya dapat diidentifikasi secara menyeluruh.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahn, J., Wu, J., Ahn, J., & Lee, J. (2019). Comparative investigations on sulfidic gold ore processing: A novel biooxidation process option. *Minerals Engineering*, 140(April). <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2019.105864>
- Erkmen, O. (2021). *Laboratory Practices in Microbiology* (1st editio). Academic Press.
- Fachria, R., Ramdan, H., & Aryantha, I. (2020). Efektivitas pengolahan limbah cair industri penyamakan kulit Sukaregang Garut dengan adsorben karbon aktif dan ijuk. *Jurnal Pengelolaan Lingkungan Berkelanjutan (Journal of Environmental Sustainability Management)*, 3(3), 379–388. <https://doi.org/10.36813/jplb.3.3.379-388>
- Kamil, I., Ini, S., Untuk, D., Sebagian, M., Menjadi, P., Teknik, S., Kimia, D. T., Teknik, F., & Indonesia, U. (2008). *Pemanfaatan Bakteri Thiobacillus thioparus untuk Mendegradasi Kandungan Sulfur dalam Gas Alam*.
- Kominfo, A. (2021). *Gambaran Umum Kabupaten Pasuruan 2021*. 09 Agustus. <https://www.pasuruankab.go.id/pages-29-gambaran-umum-kabupaten-pasuruan-2021>
- Lindström, E. B., Gunneriusson, E., & Tuovinen, O. H. (1992). Bacterial oxidation of refractory sulfide ores for gold recovery. *Critical Reviews in Biotechnology*, 12(1–2), 133–155. <https://doi.org/10.3109/07388559209069190>
- Lingga, R., & Afriyansyah, B. (2020). Identification Of Cu Resistant Bacteria From Tin Mining-Affected Sea Sediment. *Jurnal Pembelajaran Dan Biologi Nukleus*, 6(2), 112–119. <https://doi.org/10.36987/jpbn.v6i2.1666>
- Liu, H. chang, Xia, J. lan, Nie, Z. yuan, Liu, L. zhu, Wang, L., Ma, C. yan, Zheng, L., Zhao, Y. dong, & Wen, W. (2017). Comparative study of S, Fe and Cu speciation transformation during chalcopyrite bioleaching by mixed mesophiles and mixed thermophiles. *Minerals Engineering*, 106, 22–32. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2017.01.013>
- Lopes, A. R., Madureira, D., Diaz, A., Santos, S., Vila, M. C., & Nunes, O. C. (2020). Characterisation of bacterial communities from an active mining site and assessment of its potential metal solubilising activity. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(6), 104495. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104495>
- Mubarok, M. Z., Winarko, R., Chaerun, S. K., Rizki, I. N., & Ichlas, Z. T. (2017). Improving gold recovery from refractory gold ores through biooxidation using iron-sulfur-oxidizing/sulfur-oxidizing mixotrophic bacteria. *Hydrometallurgy*, 168, 69–75. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2016.10.018>

- Pokorna, D., & Zabranska, J. (2015). *Sulfur-oxidizing Bacteria in Environmental Technology Sulfur-oxidizing bacteria in environmental technology. February.* <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.02.007>
- Robertson, L. A., & Kuenen, J. G. (2006a). *The Colorless Sulfur Bacteria*. 985–1011.
- Robertson, L. A., & Kuenen, J. G. (2006b). *The Genus Thiobacillus*. 5, 812–827. https://doi.org/DOI: 10.1007/0-387-30745-1_37
- Saavedra, A., Aguirre, P., & Gentina, J. C. (2020). Biooxidation of Iron by Acidithiobacillus ferrooxidans in the Presence of D-Galactose: Understanding Its Influence on the Production of EPS and Cell Tolerance to High Concentrations of Iron. *Frontiers in Microbiology*, 11(April), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00759>
- Said, M. I., & Likadja, J. C. (2012). Isolasi dan Identifikasi Bakteri yang Berpotensi sebagai Penghasil Enzim Protease pada Industri Penyamakan Kulit PT. Adhi Satria abadi (ASA), Yogyakarta. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pertenakan*, 2(9), 121–128.
- Tang, K., Baskaran, V., & Nemati, M. (2009). *Bacteria of the sulphur cycle : An overview of microbiology , biokinetics and their role in petroleum and mining industries*. 44, 73–94. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2008.12.011>
- Ulya, F., Prijambada, I. D., & Wiratni. (2018). *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pengoksidasi CuFeS₂ dan FeS dari Tanah Sulfat Masam Kalimantan*. Universitas Gadjah Mada.
- Vargas, T., Estay, H., Arancibia, E., & Díaz-Quezada, S. (2020). In situ recovery of copper sulfide ores: Alternative process schemes for bioleaching application. *Hydrometallurgy*, 196, 105442. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2020.105442>
- Yudo, S. (2018). Kondisi Pencemaran Logam Berat Di Perairan Sungai Dki Jakarta. *Jurnal Air Indonesia*, 2(1), 1–15. <https://doi.org/10.29122/jai.v2i1.2275>
- Zhao, X., Wang, R., Lu, X., Lu, J., Li, C., & Li, J. (2013). Bioleaching of chalcopyrite by Acidithiobacillus ferrooxidans. *Minerals Engineering*, 53, 184–192. <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2013.08.008>
- Zhu, P., Liu, X., Chen, A., & Liu, H. (2019). *Comparative study on chalcopyrite bioleaching with assistance of different carbon materials by mixed moderate thermophiles*. 29, 1294–1303. [https://doi.org/10.1016/S1003-6326\(19\)65036-3](https://doi.org/10.1016/S1003-6326(19)65036-3)

How To Cite This Article, with APA style :

Ulya F. (2022). Isolation and Selection of Sulfuric Acid Bacteria from Kejayan River as Bio-oxidation Agents. *Jurnal Pembelajaran dan Biologi Nukleus*, 8(2), 419-429. <https://doi.org/10.36987/jpbn.v8i2.2928>.