



REDUKSI SULFAT OLEH BAKTERI INDEGENOUS DARI AIR SUMUR GALI SEKITAR INDUSTRI DAUR ULANG BATERAI AKI

SULFATE REDUCTION BY INDEGENOUS BACTERIA FROM DUG WELL WATER IN THE BATTERY RECYCLING INDUSTRY

Nabiilah Hurul Ainun^{*}, Rasyidah, Rizki Amelia Nasution

^{*}Corresponding Author

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Sumatera Utara

*Email: nabiilahurul@gmail.com

ABSTRAK

Bakteri Pereduksi Sulfat (BPS) merupakan kelompok bakteri anaerobik, yang banyak terdapat di alam dan memainkan peran yang sangat diperlukan dalam sulfur dan siklus karbon di bumi. Beberapa bakteri pereduksi sulfat menggunakan sulfat (SO_4^{2-}) atau teroksidasi lainnya senyawa belerang sebagai penerima elektron terminal dalam oksidasi zat organik. Bakteri pereduksi sulfat ditemukan hampir di semua lingkungan baik di tanah, air tawar, air laut dan air payau. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana hasil uji reduksi bakteri *indigenous* dari air sumur gali sekitar industri daur ulang baterai aki. Bakteri pereduksi sulfat diisolasi dari air sumur gali sekitar industri daur ulang baterai aki di Bandar Khalifah menggunakan media cair *Postgate B* dan di murnikan dengan metode pengenceran. Karakteristik morfologi koloni, mikroskopis dan biokimia di indentifikasi menggunakan buku *Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology*. Hasil penelitian ditemukan 8 isolat bakteri pereduksi sulfat dari air sumur gali di Bandar Khalifah. 8 isolat BPS dapat tumbuh pada media dengan pH 3 & pH 6. Efisiensi pereduksi sulfat tiap isolat berbeda. Namun, efisiensi reduksi meningkat pada pH 6. Kesimpulan dari penelitian ini menunjukkan bahwa kemampuan mereduksi tertinggi diperoleh oleh BPS 04 pada pH 3 dengan rata-rata penurunan sebanyak 78.49 ppm dan pada pH 6 rata-rata penurunan sebanyak 61.23 ppm. Hasil identifikasi bakteri menunjukkan bahwa 2 isolat berasal dari genus *Desulfobulbus* (BPS 01 dan BPS 03), 2 isolat berasal dari genus *Desulfococcus* (BPS 02 dan BPS 09) dan 4 isolat berasal dari genus *Desulfotomaculum* (BPS 04, BPS 05, BPS 06 dan BPS 07).

Kata Kunci: Bakteri Pereduksi Sulfat, Identifikasi, Isolasi, Sumur Gali

ABSTRACT

Sulfate-Reducing Bacteria (BPS) are a type of anaerobic bacteria that are abundant in nature and play an important role in the sulfur and carbon cycles on Earth. Some sulfate-reducing bacteria use sulfate (SO₄²⁻) or other oxidized sulfur compounds as terminal electron acceptors when oxidizing organic compounds. Sulfate-reducing bacteria are found in almost every environment, including soil, fresh water, seawater, and brackish water. This study seeks to determine the results of indigenous bacteria reduction studies on excavated well water in the battery recycling business. Sulfate-reducing bacteria were isolated from excavated well water near the battery recycling industry in Bandar Khalifah using *Postgate B* liquid media and cleaned by the dilution process. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* was used to identify colony morphology as well as microscopic and biochemical characteristics. The study found eight sulfate-reducing isolates in dug well water in Bandar Khalifah. Eight BPS isolates could grow on media with pH 3 and pH 6. Each isolate's sulfate-reducing efficiency were different. However, the reduction efficiency increases at pH 6. The conclusion of this research shows that the highest reducing ability was obtained by BPS 04 at pH 3 with an average reduction of 78.49 ppm and at pH 6 an average reduction of 61.23 ppm. The identification results indicate that two isolates were from the genus *Desulfobulbus* (BPS 01 and BPS 03), two isolates from the genus *Desulfococcus* (BPS 02 and BPS 09), and four isolates from the genus *Desulfotomaculum* (BPS 04, 05, 06, and 07).

Keyword: Sulfate Reducing Bacteria, Identification, Isolation, Dug well

PENDAHULUAN

Pencemaran lingkungan merupakan sebuah ancaman bagi kesejahteraan makhluk hidup. Banyaknya kegiatan industri yang menjadi faktor penyebab terjadinya pencemaran lingkungan. Pencemaran terjadi diberbagai lingkungan, baik itu di udara, tanah, dan air. Menurut data Badan Pusat Statistik (2021) tentang banyaknya desa atau kelurahan menurut jenis pencemaran lingkungan hidup di Sumatera Utara, pencemaran air merupakan jenis pencemaran lingkungan hidup yang paling tinggi setiap tahunnya.

Air merupakan sumber kebutuhan hidup seluruh makhluk hidup, terutama manusia. Air yang bersih adalah air yang memenuhi persyaratan kualitas air yang telah ditentukan. Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No.416/MENKES/PER/IX/1990 tentang Syarat-Syarat dan Pengawasan Kualitas Air, yang dimaksud air bersih adalah air yang jernih, tidak berwarna, tidak berbau, tidak berasa, dan tidak mengandung mineral atau kuman yang membahayakan tubuh. Jika air tidak memenuhi syarat kualitas air, maka air dapat dikatakan tercemar.

Banyak faktor yang menyebabkan para pelaku industri tidak melakukan pengelolaan limbah dengan baik. Menurut Akhmaddhian dan Peny (2021), yang menjadi faktor utama pengelolaan limbah adalah para pelaku usaha harus mengeluarkan biaya untuk mengolah limbah dengan baik.

Hal ini tidak menjadi masalah untuk industri yang besar, namun menjadi masalah untuk industri yang tergolong industri menengah dan kecil. Karena keterbatasan biaya yang harus dikeluarkan, maka banyak industri yang tidak mengelola limbah dengan baik.

Limbah merupakan produk sisa dari proses produksi suatu industri. Limbah dapat mencemari lingkungan karena mengandung berbagai bahan dan senyawa yang berbahaya. Limbah digolongkan menjadi empat kategori, yaitu limbah padat, limbah cair, limbah gas, dan limbah B3 (Berbahaya dan Beracun) (Pasetia *et al.*, 2020). Limbah cair merupakan salah satu limbah yang banyak menjadi penyebab pencemaran di berbagai lingkungan, terutama di lingkungan perairan.

Limbah cair adalah limbah yang berwujud cair atau disebut juga sebagai air limbah. Air limbah mengandung berbagai senyawa-senyawa kimia yang terlarut dalam air dan dibuang ke lingkungan (Suhairin *et al.*, 2020). Sebelum dibuang ke lingkungan, limbah cair harus melewati proses pengelolaan yang baik untuk menurunkan kadar senyawa kimia sesuai dengan baku mutu. Pengelolaan limbah cair yang tidak baik dapat mencemari tanah dan sumber-sumber air yang ada disekitar lingkungan. Salah satu industri yang menghasilkan limbah cair yang dapat mencemari lingkungan apabila tidak dikelola dengan baik adalah industri daur ulang baterai aki.

Limbah cair yang dihasilkan berasal dari proses pengelolaan air aki yang mengandung asam sulfat, air pencucian plastik, dan dari proses peleburan plastik. Daur ulang baterai aki bertujuan untuk mengambil timah dan box plastik yang ada pada aki bekas (Bayuseno, 2009). Air hasil proses pencucian aki bekas merupakan limbah cair yang mengandung senyawa asam sulfat (Novianti, 2015). Limbah cair daur ulang baterai aki ini termasuk kedalam limbah B3 (Limbah Beracun dan Berbahaya) karena mengandung beberapa senyawa logam dan asam sulfat.

Permasalahan air tanah atau sumur terjadi di salah satu daerah Kabupaten Deli Serdang. Air sumur masyarakat di sekitar industri daur ulang aki tercemar logam berat dan mengalami perubahan fisik. Pada penelitian Ahmad *et al.* (2014), membuktikan bahwa pada air sumur gali masyarakat sekitar industri daur ulang baterai aki mengalami pencemaran dan beresiko mengganggu kesehatan masyarakat. Air sumur yang semulanya jernih berubah menjadi hitam dan berbau belerang, setelah adanya kegiatan industri daur ulang baterai aki tersebut.

Perubahan air menjadi warna hitam dan berbau belerang serta busuk disebabkan akibat adanya pembusukan bahan organik dan terdapat reaksi perubahan sulfat alami dalam air menjadi hidrogen sulfida (H_2S). Menurut EPA (2007) ketika air meresap kedalam tanah sulfat yang ada pada bebatuan atau lapisan tanah terlepas masuk kedalam air. Sulfat alami yang ada pada air dikonsumsi oleh bakteri pereduksi sulfat, sehingga mengeluarkan produk sampingan yaitu hidrogen sulfida (H_2S).

Bakteri *indigenous* merupakan bakteri yang hidup di berbagai lingkungan, baik di lingkungan alami maupun lingkungan yang tercemar (Batu bara, 2015). Salah satu bakteri *indigenous* yang terdapat dalam air yang tercemar adalah Bakteri Pereduksi Sulfat. Bakteri Pereduksi Sulfat merupakan bakteri kelompok heterotrofik yang memanfaatkan sejumlah senyawa organik sebagai sumber karbon dan pada kondisi ekstrim mampu bertahan hidup. Bakteri ini menggunakan senyawa sulfat, tiosulfat, sulfit, dan senyawa sulfur tereduksi lainnya sebagai akseptor elektron dalam aktivitas respirasi metaboliknya (Madigan *et al.*, 1992 dalam jurnal Purnamaningsih *et al.*, 2017).

Bakteri Pereduksi Sulfat merupakan kelompok bakteri anaerobik, yang banyak terdapat di alam dan memainkan peran yang sangat diperlukan dalam sulfur dan siklus karbon di bumi. Beberapa Bakteri Pereduksi Sulfat menggunakan sulfat (SO_4^{2-}) atau teroksidasi lainnya senyawa belerang sebagai penerima elektron terminal dalam oksidasi zat organik (Kushkevych *et al.*, 2021). Bakteri Pereduksi Sulfat dapat ditemukan di hampir semua habitat, termasuk tanah, air tawar, air laut, air payau, sumber air panas, sumur minyak dan gas, endapan lumpur, selokan, besi berkarat, dan usus (Postgate, 1984 dalam Taroreh *et al.*, 2015). Bakteri Pereduksi Sulfat dapat dimanfaatkan sebagai bioremediasi air asam tambang untuk menurunkan keasaman pada area tersebut.

Beberapa penelitian telah menemukan Bakteri Pereduksi Sulfat pada beberapa lingkungan seperti area pertambangan, di sumber air panas, sungai, dan beberapa bendungan. Berdasarkan penelitian Yusron *et al* (2019), Bakteri Pereduksi Sulfat ditemukan pada area pertambangan batu bara muara enim, Sumatera Selatan. Posumah dan Dewianti (2018), dalam penelitiannya menemukan Bakteri Pereduksi Sulfat di air panas sarongsong kota Termohon. Dan penelitian Budiarsa *et al.* (2018) menemukan Bakteri Pereduksi Sulfat yang berasal dari bendungan muara di Suwung Denpasar, Bali. Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana hasil uji reduksi bakteri *indigenous* dari air sumur gali sekitar industri daur ulang baterai aki

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan November-Desember 2023 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara (USU).

Lokasi Pengambilan Sampel

Lokasi pengambilan sampel air sumur gali berada di Desa Bandar Khalifah, Gg. Murai, Kabupaten Deli Serdang.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat Penelitian

Alat-alat dalam penelitian ini meliputi: inkubator, oven, autoklaf, mikropipet, timbangan analitik, *hot plate*, alat pengaduk, aluminium foil, *magnetic stirrer*, bunsen, jarum ose, kertas bekas, tisu, mancis atau korek api, tabung reaksi, label, *erlenmeyer*, cawan petri, rak tabung reaksi, *glas beaker*, *objek glass*, masker, mikroskop, pH meter, pH universal, botol kaca steril, *cool box*, *water sampling* dan spektrofotometer Uv-Vis.

Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain: media cair *Postgate B*, media padat *Postgate B*, media *Sulfide Indole Motility (SIM)*, media *Nutrient Agar (NA)*, media *Triple Sugar Iron Agar (TSIA)*, media *Simon's Citrate Agar (SCA)*, aquades, sampel air sumur gali, alkohol 96 %, asam sulfat (H_2SO_4), NaOH 1%, H_2O_2 3% , NaCl, HCl, minyak imersi, kristal violet, iodin, safranin, dan spiritus.

Metode Penelitian

Pendekatan penelitian ini menggunakan teknik eksperimen laboratorium. Penelitian ini dibagi dalam beberapa tahapan antara lain sterilisasi alat dan bahan, pengambilan sampel air sumur gali yang terkontaminasi limbah industri daur ulang baterai, pembuatan media, isolasi dan pemurnian bakteri, uji reduksi asam sulfat dengan variasi pH, pewarnaan gram, uji biokimia, dan efisiensi reduksi sulfat.

Prosedur Kerja

A. Pengambilan Sampel Air Sumur Gali

Disiapkan alat *water sampling*, kemudian alat diturunkan kedalam sumur hingga hampir mencapai dasar sumur. Jika sudah mencapai kedalaman yang telah ditentukan, kemudian *water sampling* dibuka dan tunggu hingga terisi penuh. Setelah penuh, tutup penutup *water sampling* dan alat dinaikkan keatas. Selanjutnya, sampel air sumur dimasukkan kedalam botol sampel steril sebanyak 100 ml, dilakukan dengan cepat dan aseptis. Sisakan ruang udara $\pm 2,5$ cm dari leher botol. (SNI 9063:2022).

B. Isolasi Bakteri Pereduksi Sulfat

Isolasi bakteri dilakukan dengan pengenceran bertingkat. 1 ml sampel air sumur diambil dan dimasukkan kedalam tabung yang berisi larutan NaCl 9 ml. Pengenceran bertingkat dilakukan hingga 10^{-5} . Setelah itu, pada pengenceran terakhir diambil 1 ml sampel dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi media cair *Postgate B*. Kemudian sampel diinkubasi pada suhu 35°C selama 2 x 24 jam atau hingga media berubah menjadi hitam. Kehadiran bakteri pereduksi sulfat ditandai dengan terjadinya perubahan warna pada media cair *Postgate B* yang menjadi berwarna hitam.

C. Pemurnian Isolat Bakteri

Pemurnian bakteri dilakukan dengan menggunakan media padat *Postgate B*. Isolat yang telah tumbuh pada media cair dipindahkan ke media padat *Postgate B* dengan metode *pour plate*. Kemudian diinkubasi dengan suhu 35°C selama 2 x 24 jam. Setelah itu, dilihat pertumbuhan koloni pada permukaan media padat *Postgate B*. Kemudian dilakukan pemurnian kembali isolat yang terpilih ke media NA. Setelah itu diinkubasi pada suhu 35°C selama 2 x 24 jam.

D. Pembuatan Larutan Asam Sulfat dan Kurva Kalibrasi

Larutan asam sulfat 500 ppm dibuat dengan melarutkan 0,05 ml asam sulfat yang telah diencerkan kedalam 100 ml aquades. Kemudian, dibuat larutan standart dengan konsentrasi 100, 200, 300, dan 400 ppm. Untuk larutan dengan konsentrasi 100 ppm, 2 ml asam sulfat dilarutkan dalam 10 ml aquades. Untuk larutan dengan konsentrasi 200 ppm, 4 ml asam sulfat dilarutkan dalam 10 ml aquades. Untuk larutan dengan konsentrasi 300 ppm, 6 ml asam sulfat dilarutkan dalam 10 ml aquades. Untuk larutan dengan konsentrasi 400 ppm, 8 ml asam sulfat dilarutkan dalam 10 ml aquades.

E. Uji Reduksi Sulfat dengan Variasi pH

Disiapkan *erlenmeyer* steril dan diisi media cair *Postgate B* sebanyak 25 ml. Larutan asam sulfat ditambahkan kedalam *erlenmeyer* sebanyak 500 ppm. Pada masing-masing media yang diperkaya asam sulfat 500 ppm dilakukan penentuan variasi pH pada media. Variasi pH tersebut adalah 3, 6, dan 9 dengan 2 ulangan. Penambahan isolat dilakukan dengan mengambil 1 ose isolat bakteri dan dimasukkan kedalam *erlenmeyer*. Sebagai kontrol, *erlenmeyer* berisi media cair *Postgate B* yang diperkaya dengan larutan asam sulfat 500 ppm dengan variasi pH 3, 6, dan 9 tidak diberikan bakteri. Sampel dishaker selama 14 hari dan pada hari terakhir kadar asam sulfat diukur dengan menggunakan spektrofotometer Uv-Vis.

Untuk perhitungan efisiensi reduksi sulfat dilakukan dengan memasukkan rumus efisiensi sebagai berikut:

Rumus Efisiensi Penurunan Sulfat

$$\frac{\text{Konsentrasi sulfat awal} - \text{Konsentrasi sulfat akhir}}{\text{Konsentrasi sulfat awal}} \times 100\% \dots\dots\dots (\text{Widyati, 2007}).$$

F. Karakterisasi Bakteri

Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram dilakukan dengan menggunakan larutan kristal violet, iodine, alkohol 96% dan safranin dengan 4 tahap. Sebelum masuk ketahap pewarnaan pertama, objek glass dibersihkan dan difiksasi terlebih dahulu. Objek glass kemudian ditetaskan dengan aquades, diaplikasikan secara aseptik pada objek kaca, dan difiksasi di atas Bunsen yang menyala. Langkah pertama, sediaan isolat bakteri ditetaskan 2-3 tetes kristal violet, didiamkan 1 menit, dicuci dengan air mengalir, dan dikeringkan. Tahap kedua, sediaan ditetesi larutan iodine, didiamkan 1 menit, dicuci dengan air mengalir, dan dikeringkan. Tahap ketiga, sediaan ditetaskan dengan alkohol 96% dan didiamkan selama 30-45 detik sebelum dicuci dengan air mengalir. Tahap keempat, sediaan ditetesi larutan safranin selama 45 detik, dicuci dengan air mengalir, dan dikeringkan. Selanjutnya, periksa sediaan di bawah mikroskop dengan perbesaran yang diperlukan. Agar sediaan lebih jernih, tambahkan minyak imersi.

Apabila preparat isolat bakteri berwarna ungu, maka bakteri termasuk jenis bakteri gram-positif. Dan apabila preparat isolat bakteri berwarna merah, maka bakteri termasuk jenis bakteri gram-negatif. Pewarnaan gram juga untuk mengamati morfologi sel bakteri.

Uji Biokimia

1). Uji Motilitas

Uji motilitas dilakukan dengan menggunakan media SIM (*Sulfid Indole Motility*). Kultur bakteri diambil sebanyak 1 ose dengan menggunakan jarum ose, kemudian jarum ose ditusukkan pada media SIM dengan tegak lurus. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 x 24 jam. Hasil positif menunjukkan pertumbuhan bakteri yang menyebar pada tusukan. Sedangkan, hasil negatif menunjukkan pertumbuhan bakteri yang tidak menyebar pada tusukan media.

2). Uji Indol

Tes indole menentukan apakah mikroorganisme yang terdeteksi memiliki kapasitas untuk memecah asam amino triptofan, yang menghasilkan molekul indole. Setelah menambahkan 1-2 tetes reagen Kovac, muncul cincin merah pada permukaan media SIM yang menunjukkan temuan positif.

3). Uji TSIA

Uji ini dilakukan untuk membedakan jenis berdasarkan kemampuan memecahkan gula, laktosa, sukrosa dan pembebasan sulfida. Uji TSIA akan menunjukkan bakteri menghasilkan gas, H₂S atau tidak. Isolat bakteri diambil menggunakan ose lalu ditusukkan pada media TSIA sampai sepertiga dasar tabung lalu diangkat dan digores secara zig-zag pada permukaan media. Kemudian media diinkubasi selama 2×24 jam pada suhu 37°C lalu diamati perubahannya.

4). Uji Sitrat

Tes ini dirancang untuk mendeteksi kapasitas bakteri dalam menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi. Isolat bakteri disuntikkan secara vertikal pada media miring SCA dengan cara digores secara zig-zag dan ditusuk pada bagian bawah. Media kemudian akan diinkubasi pada suhu 28°C selama 18-24 jam untuk melihat adanya perubahan. Indikasi yang menguntungkan adalah perubahan rona menjadi biru.

5). Uji Katalase

Uji katalase dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri menghasilkan enzim katalase. Disiapkan objek glass, teteskan H₂O₂ 3% pada objek glass, setelah itu diambil satu ose isolat murni dan diletakkan pada objek glass. Kemudian dihomogrnkan, hasil positif menunjukkan adanya gelembung-gelembung gas O₂ dan hasil negatif tidak menunjukkan adanya gelembung gas.

G. Identifikasi Bakteri Pereduksi Sulfat

Identifikasi Bakteri Pereduksi Sulfat dilakukan dengan menggunakan Identifikasi bakteri dilakukan hingga tahap genus dengan berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th Edition* dan beberapa referensi lainnya dari penelitian sebelumnya. Identifikasi bakteri dilakukan dengan melihat kemiripan karakteristik bakteri antara lain pewarnaan gram, uji biokimia serta kemampuan bakteri dalam mereduksi sulfat.

Analisis Data

Hasil uji karakteristik dibandingkan dengan buku "*Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology*" untuk dilakukan identifikasi bakteri. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan rumus. Hasil data reduksi sulfat dan identifikasi disajikan dalam bentuk tabel dan gambar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Isolasi dan Pemurnian Bakteri Pereduksi Sulfat dari Air Sumur Gali

Isolasi bakteri yang dilakukan dari air sumur gali mendapatkan 10 isolat. Isolasi dilakukan dengan pengenceran 10⁻⁵, ditumbuhkan pada media cair *Postgate B*. Pertumbuhan bakteri ditandai

dengan adanya perubahan warna pada media menjadi hitam. Pemurnian bakteri dilakukan dengan menggunakan media padat *Postgate B*. Terpilih 8 isolat yang tumbuh pada pemurnian media padat *Postgate B*. Tahap selanjutnya, 8 isolat di murnikan kembali dengan menggunakan media NA.

B. Karakteristik Bakteri

1. Karakteristik Morfologi Isolat Secara Makroskopik

Karakteristik morfologi isolat secara makroskopik tertera dalam Tabel 1. berikut ini.

Tabel 1. Hasil Pengamatan Morfologi Koloni Isolat Secara Makroskopik

| No | Kode | Bentuk | Margin | Elevasi | Warna |
|----|--------|-----------|----------|---------|------------------|
| 1 | BPS 01 | Irregular | Curled | Convex | Putih |
| 2 | BPS 02 | Irregular | Entire | Convex | Putih-Kekuningan |
| 3 | BPS 03 | Irregular | Rhizoid | Convex | Putih |
| 4 | BPS 04 | Circular | Entire | Convex | Putih |
| 5 | BPS 05 | Circular | Curled | Convex | Putih-Kekuningan |
| 6 | BPS 06 | Irregular | Undulate | Convex | Putih-Kekuningan |
| 7 | BPS 07 | Spindel | Entire | Convex | Putih |
| 8 | BPS 09 | Circular | Rhizoid | Convex | Putih |

Koloni isolat BPS memiliki bentuk *irregular*, *circular* dan *spindle*. Margin pada koloni isolat BPS terdiri dari *curled*, *entire*, *rhizoid*, dan *undulate*. Sedangkan, elevasi pada semua isolat adalah *convex*. Seluruh koloni isolat BPS rata-rata memiliki warna putih hingga putih-kekuningan.

2. Karakteristik Morfologi Isolat Secara Mikroskopik

2.1 Pewarnaan Gram

Hasil pengamatan morfologi isolat secara mikroskopik tertera dalam Tabel 2. berikut ini.

Tabel 2. Hasil Pengamatan Morfologi Isolat Secara Mikroskopik

| Kode | Bentuk Sel | Pewarnaan Gram |
|--------|--------------|----------------|
| BPS 01 | Streptobasil | - |
| BPS 02 | Monococcus | - |
| BPS 03 | Streptobasil | - |
| BPS 04 | Streptobasil | + |
| BPS 05 | Streptobasil | + |
| BPS 06 | Monobasil | + |
| BPS 07 | Streptobasil | + |
| BPS 09 | Monococcus | - |

Keterangan : (-) = Negatif, (+) = Positif

Hasil pewarnaan gram pada 8 isolat BPS menunjukkan bahwa 4 isolat termasuk bakteri gram-positif (BPS 04, 05, 06, 07) dan 4 isolat termasuk bakteri gram-negatif (BPS 01, 02, 03, 09). Bentuk sel pada isolat BPS terdiri dari *sterptobasil*, *monobasil*, dan *monococcus*. Bakteri memiliki berbagai bentuk sel yang bermacam-macam, yaitu bentuk bulat, batang, lengkung atau spiral

2.2 Uji Biokimia Isolat

Hasil uji biokimia isolat Bakteri Pereduksi Sulfat tertera dalam Tabel 3. berikut ini.

Tabel 3. Hasil Uji Biokimia Isolat Bakteri Pereduksi Sulfat

| Kode Isolat | TSIA | | Sitrat | | SIM | | Katalase |
|-------------|-------|------|------------------|---|-------|-------|----------|
| | Slant | Butt | H ₂ S | | Indol | Motil | |
| BPS 01 | A | K | - | - | - | + | + |
| BPS 02 | A | A | - | - | - | - | + |
| BPS 03 | A | K | - | - | - | + | + |
| BPS 04 | A | K | + | + | - | + | + |
| BPS 05 | A | K | - | - | - | + | + |
| BPS 06 | A | K | - | - | - | + | + |
| BPS 07 | A | K | - | + | - | + | + |
| BPS 09 | K | K | - | - | - | + | + |

Keterangan : A = Merah (tidak dapat memfermentasi gula), K= Kuning (dapat memfermentasi laktat dan sukrosa)

Berdasarkan Tabel 3., menunjukkan hasil uji biokimia pada ke 8 isolat BPS. Uji Biokimia dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat dalam memproduksi enzim dan memecahkan berbagai macam gula.

C. Reduksi Sulfat Oleh Bakteri Pereduksi Sulfat

Kemampuan reduksi sulfat oleh Bakteri Pereduksi Sulfat tertera dalam Tabel 4. berikut ini.

Tabel 4. Kemampuan Reduksi Sulfat Isolat BPS pada Konsentrasi Sulfat 500 ppm pada pH 3 dan pH 6.

| Kode Isolat | pH 3 | | pH 6 | |
|-------------|---------------------------|---------------------|---------------------------|---------------------|
| | Rata-Rata Penurunan (ppm) | Efisiensi Reduksi % | Rata-Rata Penurunan (ppm) | Efisiensi Reduksi % |
| Bps 04 | 78.49 | 84.30 | 61.23 | 87.75 |
| Bps 09 | 114.15 | 77.17 | 86.10 | 82.78 |
| Bps 01 | 123.38 | 75.32 | 86.84 | 82.63 |
| Bps 07 | 129.44 | 74.11 | 122.23 | 75.55 |
| Bps 06 | 130.54 | 73.89 | 122.59 | 75.48 |
| Bps 02 | 138.97 | 72.20 | 123.41 | 75.31 |
| Bps 03 | 147.69 | 70.46 | 124.54 | 75.09 |
| Bps 05 | 164.43 | 67.14 | 129.23 | 74.15 |

Pada Tabel 4. menunjukkan hasil reduksi isolat bakteri bervariasi begitu juga dengan nilai efisiensi reduksinya. Pada pH 3, efisiensi reduksi sulfat berkisar antara 67.14% sampai 84.30%. Pada pH 6, efisiensi reduksi sulfat berkisar antara 74.15% sampai 87.75%. Kemampuan mereduksi tertinggi diperoleh oleh isolat BPS 04 pada pH 3 yaitu dengan rata-rata penurunan sebanyak 78.49 ppm dan pada pH 6 rata-rata penurunan sebanyak 61.23 ppm. Kemampuan mereduksi terendah diperoleh isolat BPS 05 pada pH 3 dengan rata-rata penurunan sebanyak 164.43 ppm, sedangkan pada pH 6 rata-rata penurunan sebanyak 129.23 ppm.

Kemampuan bakteri mereduksi sulfat pada pH 6 lebih besar dibandingkan pada pH 3. Hal ini disebabkan karena pH optimal sangat berpengaruh untuk keberlangsungan hidup bakteri. pH mempunyai pengaruh yang signifikan terhadap perkembangan bakteri karena mempengaruhi aktivitas enzim yang dibutuhkan bakteri untuk mengkatalisis proses pertumbuhan. Tingkat pH lingkungan yang tidak memadai dapat mengganggu aktivitas enzim tersebut dan pertumbuhan bakteri (Fajar *et al.*, 2022).

Warna hitam pada tabung reaksi menunjukkan adanya penurunan kadar sulfat. Reduksi sulfat terjadi ketika bakteri pereduksi sulfat menurunkan SO_4^{2-} menjadi S^{2-} , yang kemudian berinteraksi dengan ion logam menghasilkan sulfida logam berwarna hitam dan tidak larut. Akibatnya, konsentrasi larutan dalam tabung akan meningkat seiring dengan semakin banyaknya logam sulfida yang dihasilkan (Kusumawati *et al.*, 2016).

Bakteri pereduksi sulfat memiliki enzim yang membantu metabolismenya dalam mereduksi sulfat. Terdapat 3 jenis enzim utama yang berperan dalam reduksi sulfat, yaitu ATP sulfurylase, APS reduktase, dan sulfit reduktase. Tahap awal adalah aktivasi sulfat oleh ATP sulfurylase enzim, dan reaksi berikut adalah reduksi *adenosin-5'-fosfosulfat* (APS) menjadi *adenosin-monofosfat* (AMP) dan sulfit oleh adenilil sulfat reduktase, dan reduksi selanjutnya menjadi hidrogen sulfida melalui disimilasi sulfit reduktase. Dua elektron diperlukan untuk reduksi APS menjadi AMP.

Langkah ini penting dalam jalur asimilasi dan disimilasi sulfat. Sulfid reduktase mampu mereduksi sulfid menjadi sulfida tanpa pembentukan zat antara. Reaksi ini juga merupakan langkah terakhir dalam reduksi disimilasi sulfat. Di antara enzim-enzim tersebut jalur reduksi sulfat disimilasi, reduktase APS dan reduktase sulfid disimilasi adalah indikator yang sesuai untuk proses ini di lingkungan. *Adenosin-5'-fosfosulfat reduktase* (adenylyl-sulfate reduktase atau APS reduktase) adalah salah satu enzim kunci dari pengurangan sulfat disimilasi dalam BPS (Kushkevych *et al.*, 2020).

D. Identifikasi Bakteri Pereduksi Sulfat dari Air Sumur Gali

Identifikasi bakteri dilakukan hingga tahap genus dengan berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th Edition* dan beberapa referensi lainnya dari penelitian sebelumnya (Tabel 5.).

Tabel 5. Identifikasi Isolat Bakteri Pereduksi Sulfat

| Karakteristik | Bps 01 | Bps 02 | Bps 03 | Bps 04 | Bps 05 | Bps 06 | Bps 07 | Bps 09 |
|--------------------|---------------|---------------|---------------|------------------|------------------|------------------|------------------|---------------|
| Gram | - | - | - | + | + | + | + | - |
| Bentuk Koloni | Irregular | Irregular | Irregular | Circular | Circular | Irregular | Spindel | Circular |
| Bentuk Sel | Streptobasil | Monococcus | Streptobasil | Streptobasil | Streptobasil | Monobasil | Streptobasil | Monococcus |
| Motilitas | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Sidrat | - | - | - | + | - | - | + | - |
| Indol | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Produksi Sulfida | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Sumber Karbon | Laktat | Laktat | Laktat | Laktat | Laktat | Laktat | Laktat | Laktat |
| Identifikasi Genus | Desulfobulbus | Desulfococcus | Desulfobulbus | Desulfotomaculum | Desulfotomaculum | Desulfotomaculum | Desulfotomaculum | Desulfococcus |

Isolat BPS 01 dan BPS 03 diduga termasuk dalam anggota genus *Desulfobulbus*. Isolat BPS 04, BPS 05, BPS 06, dan BPS 07 diduga termasuk dalam anggota genus *Desulfotomaculum*. Isolat BPS 02 dan BPS 09 diduga termasuk dalam anggota genus *Desulfococcus*.

SIMPULAN

1. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa reduksi sulfat oleh ke 8 isolat BPS memiliki hasil yang bervariasi. Pada pH 3, efisiensi reduksi sulfat berkisar antara 67.14% sampai 84.30%. Pada pH 6, efisiensi reduksi sulfat berkisar antara 74.15% sampai 87.75%. Kemampuan mereduksi tertinggi diperoleh oleh isolat BPS 04 pada pH 3 yaitu dengan rata-rata penurunan sebanyak 78.49 ppm dan pada pH 6 rata-rata penurunan sebanyak 61.23 ppm. Kemampuan mereduksi terendah diperoleh isolat BPS 05 pada pH 3 dengan rata-rata penurunan sebanyak 164.43 ppm, sedangkan pada pH 6 rata-rata penurunan sebanyak 129.23 ppm.
2. Hasil identifikasi bakteri pada isolat BPS 01 dan BPS 03 diduga termasuk dalam anggota genus *Desulfobulbus*. Isolat BPS 04, BPS 05, BPS 06, dan BPS 07 diduga termasuk dalam anggota genus *Desulfotomaculum*. Isolat BPS 02 dan BPS 09 diduga termasuk dalam anggota genus *Desulfococcus*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, I., Taufiq, A., & Indra, C. (2014). Analisis Kandungan Kadmium (Cd) dan Timbal (Pb) Pada Kadar Air Sumur Gali Penduduk Di Sekitar Industri Daur Ulang Aki dan Gangguan Kesehatan Pada Masyarakat Desa Bandar Khalipah Kabupaten Deli Serdang Tahun 2013. *Jurnal Lingkungan dan Keselamatan Kerja*, *Cd*. 3 (2).
- Akhmaddhian, S, & Peny, H. (2021). Penegakan Hukum terhadap Tindak Pidana Pencemaran Tanah Akibat Limbah Industri. *Jurnal Penelitian Universitas Kuningan*. 12 (2).
- Batubara, U. M., Ika, S., & Hesti, R. (2015). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Indigenus Tanah di Kawasan Kampus Universitas Jambi. *Prosiding Semirata 2015 Bidang MIPA BKS-PTN Bara*.
- Bayuseno, P, A. (2009). Evaluasi Proses Daur Ulang Sel Accu Bekas Serta Kualitas Produk Timbal. *Jurnal Rotasi*. 11 (1).
- Bayuseno, Anthanasius P. (2009). Evaluasi Proses Daur Ulang Sel Accu Bekas Serta Kualitas Produk Timbal. *Jurnal Rotasi*. 11 (1).
- Budiarsa, S. W., Iryanti, E. S., Dwi, A. S. G. A., & Sri, K. P. G. A. (2018). Exploration of Sulfate Reducing Bacteria From Polluted Waters. *African Journal of Microbiology Research*, 12 (21) EPA. Healthy Drinking Waters. *Report*.
- Fajar, I., Ima, Y.P., & Ni, M., E. (2022). Pengaruh Derajat Keasaman (pH) terhadap Pertumbuhan Bakteri Toleran Kromium Heksavalen dari Sedimen Mangrove di Muara Tukad Mati, Bali. *Jurnal Current Trends in Aquatic Science*. 1 (1).

- Kusumawati, Eko., Sudrajat, & Junita, S.P. (2016). Isolation and Identification of Sulfate Reducing Bacteria (SRB) From the Sediment Pond after a Coal Mine in Samarinda, East Kalimantan. *The 1st International Conference on Mathematics, Science, and Computer Science (ICMSC)*.
- Kushkevych, I., Daryna, A., Jozef, K., Dani, D., Monika, V., Galyna, L., & Simon K.-M. R. Rittmann. (2020). Adenosine-5' Phosphosulfate- and Sulfite Reductases Activities Of Sulfate-Reducing Bacteria from Various Environments. *Journal of Biomolecules*. 10 (921).
- Kushkevych, I., Hýžová, B., Vítězová, M., & Rittmann, S. K. M. R. (2021). Microscopic Methods for Identification of Sulfate-Reducing Bacteria from Various Habitats. *International Journal of Molecular Sciences*, 22 (8).
- Muchamad Yusron, Bibiana W Lay, Anas M Fauzi, & Dwi Andreas Santosa. (2009). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Pereduksi Sulfat Pada Area Pertambangan Batu Bara Muara Enim, Sumatera Selatan. *Jurnal Matematika Sains Dan Teknologi*, 10 (1).
- Novianti, Diah. (2015). Dampak Daur Ulang Aki Bekas Terhadap Kualitas Air dan Kesehatan Penduduk. *Jurnal Cakrawala* .9 (1).
- Pasetia, A. T., Nurkhasanah, S. D., Sudarminto, H. P., Kimia, J. T., Malang, P. N., Soekarno, J., & No, H. (2020). Proses Pengolahan Dan Analisa Air Limbah Industri Di Instalasi Pengolahan Air Limbah (Ipal). *Jurnal Distilat*. 6 (9).
- Posumah, D. C., & Rondonuwu, D. A. (2018). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik Pereduksi Sulfat di Air Panas Sarongsong Kota Tomohon. *Jurnal Biota*. 4 (1).
- Purnamaningsih, N., Retnaningrum, E., & Wilopo, W. (2017). Pemanfaatan Konsorsium Bakteri Pereduksi Sulfat Dan Zeolit Alam dalam Pengendapan logam Mn. *Jurnal Penelitian Saintek*. 22 (1).
- Suhairin, S., Muanah, M., & Dewi, E. S. (2020). Pengolahan Limbah Cair Tahu Menjadi Pupuk Organik Cair Di Lombok Tengah. *Jurnal Pengabdian Masyarakat Berkemajuan* 4 (1).
- Taroreh, F. L., Karwur, F. F., & Mangimbulude, J. C. 2015. Reduksi sulfat oleh Bakteri Termofilik dari Air Panas Sarongsong Kota Tomohon. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan," 2004*