

ISOLASI DAN KARAKTERISASI MOLEKULAR BAKTERI PEREDUKSI SULFAT DARI LIMBAH AIR ASAM TAMBANG SEBAGAI AGENSIA BIOREMEDIASI

AZRINI KHAERAH
13/353191/PBI/1121

INTI SARI

Pembukaan stratifikasi tanah akibat aktifitas penggalian tambang menyebabkan mineral sulfida terpapar oksigen dan air sehingga terbentuk air asam tambang (AAT) yang bersifat toksik bagi lingkungan. Penanganan AAT dapat dilakukan secara fisik, kimiawi dan biologis. Penanganan secara biologis dapat dilakukan dengan memanfaatkan bakteri *indigeneous* seperti kelompok bakteri pereduksi sulfat (BPS). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi BPS dari limbah AAT, menguji kemampuan BPS mereduksi sulfat serta mengidentifikasi dan mengkarakterisasi BPS secara molekular.

Bahan yang digunakan adalah tanah endapan kolam penampungan AAT yang diperoleh dari PT Berau Coal, Kalimantan timur. Masing-masing sampel tanah diinokulasikan ke dalam medium postgate sehingga didapatkan lima sampel tanah yang menunjukkan keberadaan BPS yang ditandai dengan perubahan warna medium menjadi hitam yaitu tanah *Wetland* Q8 kolom 1, kolom 2 dan kolom 4, tanah *sediment pond* WMP 7 dan hulu sungai ukud. Pengukuran aktifitas kultur campuran dalam mereduksi sulfat dalam medium postgate dilakukan dengan metode spektrofotometri menunjukkan kultur campuran dengan sumber tanah dari hulu sungai ukud memiliki efektifitas paling tinggi dengan efisiensi sebesar 73,57%. Pengujian ketahanan kultur campuran pada kondisi medium dengan kandungan sulfat yang tinggi dan kadar asam yang tinggi menunjukkan kultur campuran dengan sumber tanah dari *wetland* Q8 kolom 4 memiliki ketahan yang paling tinggi dapat bertahan pada kondisi medium dengan penambahan sulfat sebesar 200mg/L dan menaikkan pH medium dari 4 menjadi 8,5. Hasil isolasi bakteri dari kultur campuran diperoleh 2 jenis isolat yaitu isolat B023 dan D002. Isolat B023 memiliki efisiensi reduksi sulfat sebesar 76,79%. Amplifikasi gen 16S rRNA kedua jenis isolat tersebut dilakukan dengan metode PCR menggunakan primer *forward* 27F dan primer *reverse* 1492R. Hasil karakterisasi molekular gen 16S rRNA menunjukkan bahwa isolat B023 memiliki kemiripan yang paling tinggi dengan *Clostridium tetanomorphum* strain DSM 4474 sedangkan isolat D002 memiliki kemiripan yang paling tinggi dengan *Citrobacter farmeri* strain CDC 2991-81.

Kata kunci : Air asam tambang, bakteri pereduksi sulfat, medium postgate, gen 16S rRNA, PCR.

**ISOLATION AND MOLECULAR CHARACTERIZATION
OF SULFATE REDUCING BACTERIA
ISOLATED FROM ACID MAIN DRAINAGE
AS BIOREMEDIATION AGENT**

**AZRINI KHAERAH
13/353191/PBI/1121**

ABSTRACT

Unveiling of land stratification as a result of mining activity causing mineral sulfide on the rocks exposed to oxygen and water that produce toxic acid mine drainage (AMD). In order to remove AMD, there are various ways to do, such as physically, chemically or biologically. Biological way can be done by using indigenous bacteria such as sulfate reducing bacteria (SRB). Therefore the objectives of this research were to isolate SRB from AMD, to test the ability of SRB in reducing sulfate from medium and to identify and molecularly characterize of SRB.

Samples used were sediment of AMD pond at 8 different places from PT. Berau Coal, East Kalimantan. Each sediment inoculated to postgate medium. Five of those samples showed the presence of SRB which characterized by the medium color that turning to black. They were wetland Q8 pond 1, pond 2 and pond 4, sediment of WMP 7 and the Upstream of Ukud River. Measurement of the activity of consortia SRB in reducing sulfate in postgate medium using spectrophotometry method show that sample sediment from the Upstream of Ukud River had the highest point with efficiency about 73,57%. Measurement of the ability of consortia bacteria survive in different condition of sulfate and pH level showed that wetland Q8 pond 4 had the highest ability that can survive in the medium with 200 mg/L of sulfate added and increased the pH medium from 4 to 8,5. Two isolates were isolated from the consortia bacteria namely isolate D002 and B023. Isolate B023 has efficiency in reducing sulfate about 76,79%. The 16s rRNA gene of two isolates were amplified by PCR method using primer forward 27F and primer reverse 1492R. The result of molecular characterization showed that isolate B023 had highly similarity to *Clostridium tetanomorphum* strain DSM 4474 while isolate D002 had highly similarity to *Citrobacter farmeri* strain CDC 2991-81

Keywords : acid mine drainage, sulfate reducing bacteria, postgate medium, 16S rRNA gene, PCR.