

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PEREDUKSI SULFAT DARI KAWASAN PLTP KAMOJANG JAWA BARAT

ISOLATION AND IDENTIFICATION SULFAT REDUCING BACTERIA FROM KAMOJANG GEOTHERMAL POWER PLANT

Dwi Suhartanti

Prodi Biologi FMIPA Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta

Kampus III UAD. Jl. Prof. Soepomo, Janturan. Yogyakarta

Abstract

The isolation and identification of sulfat reducing bacteria (SRB) had been performed at Kamojang Geothermal Power Plant. Isolation and identification of sulfat reducer bacteria from the soil and corroded steel bolt obtained from the area of Kamojang Geothermal powerplant. Four (4) spesies of bacterias were obtained from the soil ,among them were Desulfotomaculum sp1, Desulfotomaculum sp2, Desulfotomaculum sp3, Desulfomonas pigra, and ones (1) spesies from corroded steel bolt Desulfovibrio sp.

Keyword : *Isolation, identification, sulfat reducing bacteria (SRB), geothermal power plant, corroded steel*

PENDAHULUAN

Salah satu mikrobia yang turut berperan dalam proses korosi mikrobiologis adalah bakteri pereduksi sulfat yang hidup secara anaerob dan dapat tumbuh pada kisaran pH 2 sampai pH 9, tetapi optimalnya pada pH 7. Bakteri ini ditemukan hampir pada semua tanah , dan air , terutama yang banyak mengandung bahan organik (Doeller, 1951 ; Dart, 1977; Bradford, 1992 ; Jones *et al*,1995; Supardi, 1997). Dalam suasana anaerob , asam sulfat akan direduksi oleh bakteri pereduksi sulfat menghasilkan gas H₂S dan H₂O. H₂S yang dihasilkan akan bereaksi dengan besi membentuk FeS , Fe (OH)₂. Mikrobia yang lain yang berperan dalam korosi adalah bakteri yang hidup secara aerob, yang telah diketahui dengan baik dan merupakan suatu kenyataan , misalnya aktivitas *Thiobacillus* yang dapat menghasilkan suatu lingkungan asam yang korosif. Dalam

kondisi yang aerob bakteri ini akan mengoksidasi sulfur atau senyawa sulfur menjadi asam sulfat yang mempercepat korosi.

Kandungan SO_2 di udara, tanah dan air akan berpengaruh terhadap proses korosi baik secara kimia maupun biologis, karena dengan adanya SO_2 tersebut akan memacu pertumbuhan bakteri pereduksi sulfat, selain itu SO_2 dengan adanya air hujan akan membentuk asam sulfat yang bersifat korosif bagi logam (Bradford, 1992; Rochati, 1995; Pohlman, 1996).

Tingginya kandungan SO_2 di udara dapat menyebabkan korosi pada berbagai bangunan, peralatan yang terbuat dari besi dan baja, dan kejadian ini sudah terjadi antara lain di daerah sekitar kawasan Kamojang. Sumber SO_2 di sekitar PLTP Kamojang dapat berasal dari proses produksi PLTP Kamojang, hal ini dapat kita ketahui dengan adanya bau belerang yang berasal antara lain dari mesin pembangkit listrik.

PLTP Kamojang terletak 42 km sebelah tenggara kota Bandung, di kawasan Cagar Alam dan Hutan Produksi bagian barat kompleks pegunungan Gandapura – Guntur pada ketinggian 1500 meter di atas permukaan laut. PLTP Kamojang mempunyai tugas – tugas pokok seperti yang telah ditetapkan oleh para Manajer di PT. PLN – PJB I, yaitu berterkad untuk selalu berusaha memproduksi energi listrik dengan biaya murah serta mutu dan keandalan tinggi namun tetap menjaga unsur pelestarian lingkungan dan keselamatan kerja para kaeryawannya (Unit PLTP Kamojang, 1997).

Konsentrasi SO_2 di sekitar PLTP Kamojang unit 4 dan 5 pada tahun 1990 (awal perencanaan) berkisar antara $11,85 \text{ ug / m}^3$. Namun semua konsentrasi gas SO_2 di daerah PLTP Kamojang masih di bawah ambang baku mutu lingkungan menurut Kep. 02 / MENKLH / 1988 yaitu 260 ug / m^3 (PPSDAL UNPAD, 1990; PPSDAL UNPAD, 1987). Dari hasil percobaan di lapangan yang dilakukan PPSDAL UNPAD tahun 1990 ternyata korosi terjadi paling tinggi di Menara Pendingin di mana terjadi penurunan keping uji seberat 7,34 g dari berat awal sebesar 10 g selama satu bulan, dipermukiman 3,99 g, sedangkan dilain tempat lebih kecil dari nilai tersebut.

Berdasarkan uraian diatas penulis tertarik dan merasa perlu untuk melakukan Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pereduksi Sulfat asal Kamojang. Dari uraian diatas dapat diambil sentral masalah sebagai berikut :

RUMUSAN MASALAH

Berdasarkan uraian pada latar belakang, maka dapat diidentifikasi permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah bakteri pereduksi sulfat dapat diisolasi dari kawasan PLTP Kamojang ?
2. Jenis bakteri pereduksi sulfat apa sajakah yang dapat diisolasi dari kawasan PLTP Kamojang ?

TUJUAN PENELITIAN

1. Mendapatkan isolat bakteri pereduksi sulfat dari kawasan PLTP Kamojang
2. Untuk mengetahui jenis dan populasi bakteri pereduksi sulfat dari kawasan PLTP Kamojang.

TINJAUAN PUSTAKA

Sebagian besar kelompok bakteri anaerob melakukan respirasi sulfat. Sebagian termasuk dalam eubakteria yang berflagella dan ada yang tidak berflagella (*Desulfovibrio*, *Desulfobacterium*, *Desulfococcus*, *desulfomonas*, *Desulfobacillus*, *Desulfosarcina*, *Thermosulfobacterium*), bakteri gram negatif (*Desulfonema*), eubakteria gram positif mempunyai endospora (*Desulfotomaculum*), dan archaebakteria (*Archaeoglobus*). Berat molekul bervariasi dan dapat menggunakan donor hidrogen untuk berbagai senyawa : laktat, asetat, propionat, butyrat, format, methanol, etanol, asam lemak tinggi, senyawa aromatik, dan molekul hidrogen. Pada saat tidak ada species yang dapat menggunakan senyawa-senyawa ini tak kecuali beberapa substrat yang dihasilkan oleh organisme-organisme ini. Kelompok bakteri yang melakukan reapiisasi sulfat sangat bermacam-macam dengan substrat dan siklus yang berbeda-beda (Koger, 1996; Supardi, 1997; Wallen,1998; Grimm *et al*, 2002). Bakteri ini dikelompokkan dalam subkelompok:

1. Kelompok yang dapat tumbuh dengan adanya laktat dan asam lainnya dan menggunakan molekul hidrogen. Mereka mengoksidasi donor -H dan menghasilkan

- asam asetat. Yang termasuk kelompok ini adalah *Desulfovibrio* dan *Desulfotomaculum*.
2. Dengan mengisolasi beberapa species bakteri pengguna asetat, asam lemak rantai panjang dan pendek, alkohol, senyawa aromatik, dan molekul hidrogen sebagai donor elektron. Bakteri yang termasuk dalam kelompok ini adalah *Desulfotomaculum acetooxidans*, *desulfobacter*, *Desulfonema* dan lainnya.
 3. Ada beberapa jenis tumbuh secara autotrof dengan molekul hidrogen dan tiosulfat. Bakteri yang termasuk kelompok ini yaitu strain dari *Desulfovibrio*, *Desulfobacterium*, *Desulfococcus*, *Desulfobacter*, dan *Desulfotomaculum* seperti halnya *Archaeoglobus* yang termasuk archaebacteria yang bersifat hipertermofil.
 4. Isolat bakteri *Desulfovibrio dismutans* yang menghasilkan energi hasil perubahan tiosulfat atau sulfit menjadi sulfat dan H_2S . Beberapa strain tumbuh secara autotrof atau dengan adanya asetat secara kemolitotrof. Mereka melakukan metabolisme yang dikenal dengan nama fermentasi inorganik.

Kelompok pereduksi sulfat, seperti *Desulfovibrio vulgaris*, tidak mempunyai siklus TCA secara lengkap, dan mengeluarkan asetat. Beberapa spesies dapat menggunakan asetat untuk di oksidasi melalui siklus TCA (*Desulfobacter postgatei*), dan yang lainnya melakukan oksidasi melalui jalur asetil-CoA (*Desulfobacterium*, *Desulfosarcina*, *Desulfococcus*, *Desulfotomaculum*). Strains melakukan beberapa jalur oksidasi asetat untuk fiksasi CO_2 . Dengan mengisolasi bakteri dapat menggunakan asetat dan asam lemak rantai panjang termasuk senyawa-senyawa aromatik (Stoecher, 1996; Wallen, 1998; Ott, 2000; Grimm *et al*, 2002).

Energi metabolisme yang dihasilkan melalui fosforilasi transpor elektron diperoleh dari asimilasi substrat organik (asam organik, asam amino, campuran kompleks). Beberapa strain mensintesa bagian-bagian sel dari asetat dan karbon dioksida dimana molekul hidrogen berfungsi sebagai donor hidrogen. Beberapa senyawa organik selama oksidasi dengan donor hidrogen inorganik dapat melakukan 'kemolitoheterotrof'. Fiksasi CO_2 melalui siklus Calvin dapat dilakukan, kemungkinan melalui jalur asetil-CoA (Koger, 1996; Korb, 1996; Supardi, 1997; Wallen, 1998).

Beberapa bakteri perombak sulfat mereka dapat melakukan metabolisme laktat atau piruvat tanpa adanya sulfat. Oksidasi piruvat melalui reaksi:



melalui reaksi fermentasi dan menghasilkan hidrogen:



Bakteri pereduksi sulfat sangat mampu melakukan fermentasi laktat.

Untuk kultur enrichment bakteri pereduksi sulfat, medium harus mengandung nutrisi sebagai donor hidrogen, substrat asimilasi, garam mineral, dan sulfat; kondisi harus anaerob dengan potensial redoks (E_o' , -200mV) (Bergey, 1994; Koger, 1996; Supardi, 1997; Wallen, 1998; Grimm *et al*, 2002).

METODE PENELITIAN

Bahan penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanah dan logam terkorosi asal PLTP Kamojang, Nutrien Agar, media SRB, aquades, media deret gula, serangkat zat warna untuk pewarnaan bakteri, seperangkat zat kimia untuk identifikasi bakteri.

Alat penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan Petri, tabung reaksi, tabung durham, Erlenmeyer, beker glass, "anaerobic Jar", pipet 10 ml, pipet 1 ml, kompor gas, Bunsen, objek glass, ose, mikroskop, rak tabung reaksi, autoclave, inkubator, oven.

Prosedur kerja.

Tanah yang diambil dari kawasan PLTP Kamojang ditimbang sebanyak 1 gram, kemudian ditanam pada media agar dengan metode Pengenceran. Serbuk korosi pada logam terkorosi yang diambil dari kawasan PLTP Kamojang diambil dengan cara dimasukkan dalam Erlenmeyer yang berisi air steril, dikerok, kemudian dibuat suspensi dan ditanam pada media agar dengan metode pengenceran. Jenis bakteri yang tumbuh dari masing - masing sample kemudian diisolasi sampai diperoleh isolat murni. Dan kemudian bakteri yang tumbuh dari masing - masing sample diidentifikasi dengan

panduan "Microbiology A Laboratory Manual" (Sherman and Cappuccino, 1987), serta diuji kemampuan biokimianya dengan panduan "Bergey Manual of Determinative Bacteriology " (Holt *et al*,1994). Setelah bakteri teridentifikasi, ditanam kembali pada media SRB dan mengidentifikasi kembali bakteri yang tumbuh pada media SRB.

HASIL PENELITIAN

Isolasi bakteri pereduksi sulfat

Isolasi dan *total plate count* bakteri pereduksi sulfat (SRB) menggunakan metode pourplate pada media "*Sulphate API Agar*" (Cappuccino, G J and Sherman, 1987). Kultur diinkubasi secara anaerobik menggunakan *anaerobic jar* selama 48 - 72 jam pada suhu ruang (Holt., 1994).

Hasil isolasi sample tanah dan paku yang terkorosi yang di ambil dari kawasan PLTP Kamojang diperoleh data sebagai berikut :

Tabel 1. Hasil isolasi bakteri dari tanah dan paku yang terkorosi

No.	Kode Isolat	Ciri Koloni	Ciri Mikroskopis	Jumlah (sel/ mL)	Produksi H ₂ S	Enzim Ekstraseluler		
						Pati	Lemak	Kasein
1	Paku	- (karena paku langsung ditanam dalam media agar)	Gram +, batang lurus, menghasilkan endospora	-	+	+	-	-
2	Tanah-SRB1	Circular, entire, convex, opaque, unpigmented, glistening, <i>ropy</i>	Gram +, batang lurus, menghasilkan endospora	$2,0 \times 10^4$	+	+	-	-
3	Tanah-SRB2	Irregular, filamentous, raised, translucent, unpigmented, glistening	Gram -, batang bengkok, tidak menghasilkan endospora	$2,0 \times 10^3$	+	-	+	+
4	Tanah-SRB3	Circular, entire, convex, transparent, unpigmented, glistening	Gram -, batang lurus, tidak menghasilkan endospora	$2,0 \times 10^3$	+	-	-	-
5	Tanah-SRB4	Circular, entire, convex, opaque, unpigmented, glistening	Gram +, batang lurus, menghasilkan endospora	$1,0 \times 10^7$	+	+	-	-
6	Tanah-SRB5	Irregular, filamentous, pulvinate, opaque, glistening	Gram +, batang lurus, menghasilkan endospora	$1,0 \times 10^5$	-	-	-	-

Isolat-isolat seperti tercantum pada Tabel 1 kemudian dilakukan identifikasi dengan panduan "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology" (Holt *et al*,1994) dapat disimpulkan :

1. Isolat Paku mempunyai ciri-ciri sesuai yang tercantum pada "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology" (Holt *et al*,1994) antara lain : gram +, bentuk batang lurus atau agak bengkok, membentuk endospora, motil, hidup pada kisaran suhu 25-40°C, termofilik, dapat memfermentasi laktat, asetat, butirat. Berdasarkan cirri-ciri tersebut maka dapat disimpulkan bahwa isolat tersebut adalah *Desulfotomaculum* sp1
2. Isolat Tanah-SRB1 mempunyai ciri-ciri sesuai yang tercantum pada "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology" (Holt *et al*,1994) antara lain : gram +, bentuk batang lurus atau agak bengkok, membentuk endospora, motil, hidup pada kisaran suhu 25-40°C, termofilik, dapat memfermentasi laktat, asetat, tidak memfermentasi butirat. Berdasarkan cirri-ciri tersebut maka dapat disimpulkan bahwa isolat tersebut adalah *Desulfotomaculum* sp2
3. Isolat Tanah -SRB2 mempunyai ciri-ciri sesuai yang tercantum pada "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology" (Holt *et al*,1994) yaitu : Gram - , bentuk batang bengkok, tidak membentuk endospora, hidup pada kisaran suhu 25-40°C, motil, dapat memfermentasi laktat dan asetat, tidak dapat memfermentasi butirat, dapat memfermentasi malat dan fumarat. Dari cirri tersebut maka dapat disimpulkan isolat tersebut adalah *Desulfovibrio* sp
4. Isolat Tanah -SRB3 mempunyai ciri-ciri sesuai yang tercantum pada "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology" (Holt *et al*,1994) yaitu : gram negatif, sel berbentuk batang, tidak membentuk endospora, anaerob, nonmotil, dapat memfermentasi laktat, asetat dan propionat, sehingga dapat disimpulkan isolat tersebut adalah *Desulfomonas pigra*
5. Isolat Tanah -SRB4 mempunyai ciri-ciri sesuai yang tercantum pada "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology" (Holt *et al*,1994), yaitu: gram +, bentuk batang lurus atau agak bengkok, membentuk endospora, motil, hidup pada kisaran suhu 25-40°C, termofilik, dapat memfermentasi, asetat, butirat, tidak dapat memfermentasi laktat. Berdasarkan cirri-ciri tersebut maka dapat disimpulkan bahwa isolat tersebut adalah *Desulfotomaculum* sp3

6. Isolat Tanah-SRB5 mempunyai ciri-ciri sesuai yang tercantum pada "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology" (Holt *et al*,1994) yaitu: gram +, berbentuk batang lurus, nonmotil, anaerob fakultatif, membentuk endospora, tidak mempunyai *intracelular sulfur globules*, tidak memproduksi H₂S, sehingga dapat disimpulkan isolat bakteri tersebut adalah *Bacillus* sp3, dan bakteri ini tidak termasuk dalam golongan bakteri pereduksi sulfat.

KESIMPULAN

1. Dapat diisolasi bakteri-bakteri pereduksi sulfat dari kawasan PLTP Kamojang
2. Bakteri-bakteri pereduksi sulfat yang berhasil diisolasi dari kawasan PLTP Kamojang adalah : *Desulfotomaculum* sp1, *Desulfotomaculum* sp2, *Desulfotomaculum* sp3, *Desulfomonas pigra*, *Desulfovibrio* sp.

DAFTAR PUSTAKA

- Bradford, A. S. 1992. "Corrosion Control". Van Nostrand Reinhold. New York.
- Bryson, H. J. 1996. "Corrosion of Carbon Steel". ASM Handbook. Formerly 9th ed, Metals Handbook. Vol. 13.
- Cappuccino, G. J and Sherman, N. 1987. "Microbiology : A Laboratory Manual". Rockland Company College, State University of New York.
- Dart, R. K ; R. J. Stretton. 1977. " Microbiological Aspect of Pollution Control". Elsevier Scientific Publishing Company. Amsterdam.
- Grimm, K., V. D. Hoeven, Grimm. W. D., Langendijk. P. 2002. Invitro Colonization of Sulfat Reducing Bacteria (SRB) on Resorbable Membranes for Periodontal Regeneration. Quantitative SEM Evaluation. Journal Antimicrobial and Anti Inflammatory. 3:45
- Holt, J. G at al, 1994. " Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9th . ed. The William & Wilkins. Co, Inc. Baltimore.
- Jones, B. M., Guevremont, D., Poble, E. S., Tate, W. P. 1995. "A Dynamic Competition Between Release Factor 2 and the tRNA See Decoding UGA AT THE recording Site of Escherichia coli Formate Dehydrogenase". Journal The Embo. Vol. 20. No.20

- Korb, J. L. 1996. "Corrosion". ASM Handbook. Formerly 9th ed, Metals Handbook. Vol. 13.
- Koger, W. J. 1996. "Molten – Salt Corrosion". ASM Handbook. Formerly 9th ed, Metals Handbook. Vol. 13.
- Ott, N. 2000. "Permeable Reactive Barriers for Inorganic". National network of environmental Management Studies Fellow. U.S. environmental Protection agency Office of Solid Waste and Emergency Response Technology Innovation Office. Washington. DC. <http://www.clu-in.org>. pp. 1- 37
- Pohlman, L. S. 1996. "Atmospheric Corrosion". ASM Handbook. Formerly 9th ed, Metals Handbook. Vol. 13.
- PPSDAL UNPAD. 1987. "Analisis Dampak lingkungan Rencana Pembangunan PLTP Kamojang Unit 2 dan 3. PPSDAL UNPAD. Bandung
- PPSDAL UNPAD. 1990. "Analisis Dampak lingkungan Rencana Pembangunan PLTP Kamojang Unit 4 dan 5. PPSDAL UNPAD. Bandung
- Rochati, D. 1995. "Pengembangan Desain Produk Pipa dan Pelat Baja Tahan Korosi dalam Lingkungan Gas. Dep. Perindustrian. Balai besar penelitian dan Pengembangan Industri Bahan dan Barang teknik. Bandung.
- Stoecher, G. J. 1996. "Evaluation of Microbiological Corrosion". ASM Handbook. Formerly 9th ed, Metals Handbook. Vol. 13.
- Supardi, R. 1997. "Korosi". Penerbit Tarsito Bandung.
- Unit PLTP Kamojang. 1997. Pusat Pembangkit Listrik Tenaga Panas Bumi. PT. PLN
- Wallen, B. 1998. "Corrosion of Steel in Sea Water. Journal. Acom Avesta Shffild. A. B. Research 7 Development. Swedeen

