

SIDIK CEPAT BIOKATALISASI AIR ASAM TAMBANG PADA LAHAN BEKAS TAMBANG BATUBARA

Rapid Assessment of Acid Mine Drainage on Ex-coal Mining Land

Enny Widyati^{1*}, Rahayu Widyastuti² dan/and Ratnawati Lantifasari²

¹ Pusat Litbang Hutan dan Konservasi Alam, Komplek Balitbang Kehutanan
Jl. Gunung Batu No. 5 Bogor, Telp. (0251) 86233234, Fax. (0251) 8633111

² Jurusan Ilmu Tanah dan Sumber Daya Lahan, Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor
Jl. Meranti Kampus IPB Darmaga, Bogor, Telp. (0251) 8629354, Fax. (0251) 8629352

Naskah masuk : 25 Mei 2009; Naskah diterima : 22 Oktober 2009

ABSTRACT

The hardest constraint in ex-mining land rehabilitation is dealing with acid mine drainage (AMD). This occurrence is caused by oxidation of sulfide contained in the rest minerals that release sulfate to the environment. In consequence, it will drastically generate land acidity. The trouble is becoming worse when catalyzed by sulfur-oxidizing bacteria (BOS) colonization. BOS accelerate AMD by 500,000 1,000,000 times faster than the natural geochemical reactions. This study is aimed to observe the biocatalization through biological acid producing potential (BAPP) test. The test can be completed rapidly only within 2-3 days. To convince the study, bacteria isolation is carried out on the soil with positive result. As a comparison, isolation of BOS is also conduct on the soil with negative result of BAPP test and on media without soil addition. The result showed that among the 22 of 24 soil samples (91%) are indicated positive catalyzed biologically. The accuracy of the test in this study is 80%. One of bacteria isolated from the samples are indicated immediate to Thiobacillus ferrooxidans.

Key words: *biocatalyst, ex-mining land acidity, sulfur-oxidizing bacteria*

ABSTRAK

Salah satu hambatan terberat dalam kegiatan rehabilitasi lahan bekas tambang adalah air asam tambang (AAT). AAT merupakan oksidasi mineral sulfida dengan melepaskan sulfat sehingga dapat menurunkan pH tanah secara drastis. Apabila AAT dikatalis oleh kelompok bakteri pengoksidasi sulfur (BOS), maka laju dari proses tersebut akan dipercepat 500.000 - 1.000.000 kali lipat. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas biokatalisasi pemasaman lahan bekas tambang batubara. Aktivitas biokatalisasi dapat diketahui dengan cepat (2 - 3 hari) melalui uji *biological acid producing potential* (BAPP). Untuk meyakinkan uji BAPP ini pada tanah baik yang memberikan hasil positif maupun negatif dilakukan isolasi BOS, sebagai kontrol adalah media tanpa tanah. Hasil uji menunjukkan bahwa dari 24 contoh tanah yang diuji 22 contoh tanah (91%) memberikan hasil positif. Hal ini ditunjukkan dengan pH kultur selalu di bawah 3,5 yang mengindikasikan bahwa proses pemasaman lahan dikatalis secara biologi oleh bakteri. Pengujian katalisasi biologis oleh bakteri menggunakan uji BAPP mempunyai akurasi 80%. Salah satu bakteri yang ditemukan mengkatalis pemasaman lahan adalah *Thiobacillus ferrooxidans*.

Kata kunci: biokatalisasi, bakteri pengoksidasi sulfur, pemasaman lahan bekas tambang

I. PENDAHULUAN

Kegiatan penambangan dapat meningkatkan kemakmuran rakyat, namun demikian kegiatan ini juga berpotensi menyebabkan kerusakan lingkungan yang sangat serius. Salah

satu sektor pertambangan yang sangat strategis dalam menentukan ekonomi Indonesia adalah tambang batubara, karena Indonesia merupakan pengekspor batubara urutan kedua dunia (Sayoga, 2008 dalam Widyati, 2008).

Pada umumnya penambangan batubara di Indonesia dilakukan dengan sistem terbuka (*opened pit mining*). Sistem ini dilakukan dengan menyingkirkan semua lapisan tanah di atas deposit batubara sehingga akan menghilangkan lapisan tanah yang kaya akan bahan organik (Widyati, 2006). Menurut hasil penelitian Widyati (2006), hal ini mengakibatkan tanah mempunyai pH 3,2; kandungan sulfat 60.000 ppm, kapasitas tukar kation (KTK) 9 me/100g tanah, kepadatan tanah 1,71 g/cc, ketersediaan air sangat rendah, kandungan N dan P juga sangat rendah, sehingga terjadi degradasi lahan yang akan menghambat kegiatan rehabilitasi pada lahan tersebut.

Kegiatan rehabilitasi lahan bekas tambang akan menghadapi banyak hambatan ketika pada lahan tersebut terjadi fenomena air asam tambang, yaitu meningkatnya pemasaman lahan karena batuan yang tersisa mengandung mineral sulfida yang ketika teroksidasi akan melepaskan sulfat. Menurut Tan (1993), sulfat merupakan asam kuat sehingga sangat mudah terprotonisasi melepaskan ion hidrogen. Makin tinggi konsentrasi ion hidrogen dalam suatu lingkungan maka makin masam lingkungan tersebut, karena kemasaman yang dinyatakan dengan pH merupakan kebalikan logaritma dari konsentrasi ion hidrogen ($-\log^{[H+]}$) (Tan, 1993).

Nilai pH yang rendah akibat air asam tambang tersebut akan mengakibatkan unsur P menjadi terfiksasi oleh logam, misalnya oleh Al dan Fe. Akibat lain dari rendahnya pH akan meningkatkan kelarutan unsur-unsur mikro yang umumnya merupakan unsur-unsur logam, apabila berada pada konsentrasi yang tinggi dapat meracuni tanaman (Havlin *et al.*, 1999). Hal inilah yang akan menghambat pertumbuhan tanaman revegetasi. Oleh karena itu, supaya kegiatan rehabilitasi lahan bekas penambangan terbuka dapat memberikan hasil yang memuaskan harus direncanakan dengan baik dan tepat. Berhasilnya rehabilitasi lahan bekas tambang akan dapat meminimalkan dampak lingkungan yang ditimbulkan dan akan memberikan umpan balik yang menguntungkan baik bagi tanah, mikroba dan tanaman.

Pada lahan bekas penambangan terbuka, pH tanah yang rendah dan hilangnya bahan organik tanah dapat memberikan keuntungan bagi populasi bakteri pengoksidasi sulfur (BOS) (Widyati, 2006). Salah satu BOS adalah *Thiobacillus* spp. (Alexander, 1977). Aktivitas bakteri ini dapat meningkatkan laju air asam tambang sebesar 500.000 sampai 1.000.000 kali lipat jika dibandingkan dengan reaksi yang terjadi secara geokimia (Evangelou dan Chang, 1995). Oleh karena itu pada kegiatan penanganan air asam tambang terlebih dahulu perlu dilakukan uji untuk mengetahui apakah proses tersebut dikatalis oleh bakteri atau tidak. Uji ini dikenal dengan BAPP (*Biological acid Producing Potential*) test (Brierly & Brierly, 1996 dalam Widyati, 2006). Uji BAPP dapat digunakan untuk mengetahui biokatalisasi air asam tambang secara cepat. Hasil analisis akan memberikan kemudahan bagi perencana untuk memutuskan perlakuan yang harus diberikan. Ketika hasil uji BAPP positif maka harus dilakukan perlakuan yang ditujukan untuk mengendalikan populasi bakteri pengoksidasi sulfur.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya aktivitas biokatalisasi pemasaman yang terjadi pada lahan bekas tambang batubara. Penelitian ini juga dimaksudkan untuk mengetahui akurasi uji BAPP melalui isolasi bakteri *Thiobacillus ferrooxidans*.

II. BAHAN DAN METODE

A. Lokasi dan Waktu

Contoh tanah bekas tambang diambil dari lahan bekas tambang batubara PT. Bukit Asam di Sumatra Selatan. Uji BAPP dan isolasi *Thiobacillus* spp. dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Tanah Departemen Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan, Fakultas Pertanian IPB. Analisis kimia tanah dilakukan di Laboratorium Kimia dan Kesuburan Tanah, Departemen Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan, Fakultas Pertanian IPB. Penelitian dilakukan pada bulan April sampai dengan Juni 2008.

B. Alat dan Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi tanah bekas tambang batubara yang berasal dari Muara Tiga Selatan (MTS), Non Air Laya (NAL), Tambang Air Laya (TAL), Bangko Barat galian *pit* timur (GPT) dan timbunan *pit* utara (TPU) serta Air Laya Putih Timur (ALPT), larutan *Basal Salt Solution* (BSS) yang terdiri dari (g/l): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,4 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,4 g, KH_2PO_4 0,04 g (Brierly and Brierly, 1996 dalam Widyati, 2006); media cair pertumbuhan *Thiobacillus ferrooxidans* (g/l) dengan komposisi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (3), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,5), K_2HPO_4 (0,5), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (30), $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (0,01), KCl (0,1) (Nurseha, 2000); asam sulfat encer, NaOH, contoh tanah bekas tambang batubara dan bahan-bahan untuk analisis tanah.

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah cangkul, sekop kecil, kantong plastik, tabung reaksi, labu Erlenmeyer, *laminar air flow*, dan alat-alat dokumentasi.

C. Metode

1. Pengambilan contoh tanah di lapangan

Contoh tanah bekas tambang diambil dari enam lokasi lahan timbunan (*back filling*), menggunakan metode *purposive sampling* berdasarkan wilayah penambangan yaitu Muara Tiga Selatan (MTS), Non Air Laya (NAL), Tambang Air Laya (TAL), Bangko Barat galian *pit* timur (GPT) dan timbunan *pit* utara (TPU) serta Air Laya Putih Timur (ALPT). Pengambilan contoh pada satu lokasi diulang minimal dua (2) kali (tergantung luasan lokasi) dengan jarak antar ulangan adalah 200 meter. Masing-masing contoh tanah merupakan komposit dari lima (5) titik yang diambil pada radius 5 meter. Lokasi MTS dan NAL merupakan lokasi yang paling sempit sehingga pada masing-masing lokasi hanya terdapat satu titik *sampling* dengan dua ulangan. Lokasi pengambilan sampel Bangko Barat sangat luas, sehingga dengan jarak antar ulangan 200 meter terdapat tiga titik *sampling* dengan dua sampai enam ulangan. Pada penelitian ini dihasilkan 24 sampel.

2. Pengujian BAPP menurut metode Brierly and Brierly dalam Widyati (2006)

Setelah semua bahan medium BSS dicampur selanjutnya dilakukan sterilisasi pada suhu 121°C , tekanan 1 atm selama 15 menit kemudian didinginkan. Selanjutnya dimasukkan 35 ml BSS dan 7,5 gr contoh tanah bekas tambang batubara yang diuji, diaduk merata dan pH larutan diatur menjadi 2,5 dengan menggunakan larutan asam sulfat encer atau NaOH encer. Kemudian kultur tersebut diinkubasi pada *shaker* dengan kecepatan 50 rpm (untuk memberikan aerasi) pada suhu ruangan selama 48 jam.

Untuk mengetahui adanya potensial pemasaman yang dikatalis oleh bakteri dilakukan pengukuran pH kultur setelah 48 jam kultivasi. Apabila pada pengukuran setelah kultur diinkubasi 48 jam tersebut menunjukkan $\text{pH} > 3,5$ maka kultivasi dihentikan, karena tidak ada potensial pemasaman yang dikatalis bakteri. Sedangkan apabila pada kultivasi 48 jam tersebut pada waktu diukur memberikan $\text{pH} < 3,5$ maka dilanjutkan dengan menambahkan tanah sebanyak 15 gram. Hal ini untuk meyakinkan bahwa bakteri benar-benar terlibat pada proses pemasaman maka pH kultur akan stabil $< 3,5$. Selanjutnya kultur tersebut diperpanjang masa inkubasinya selama 24 jam dengan kondisi yang sama (diproses dengan alat *shaker* dengan kecepatan 50 rpm). Setelah 24 jam dilakukan kembali pengecekan pH. Apabila $\text{pH} > 3,5$ maka tanah contoh negatif atau tidak ada potensi pemasaman lahan yang dikatalis secara biologis. Tetapi apabila $\text{pH} < 3,5$ maka tanah positif berpotensi terjadi pemasaman lahan yang dikatalis secara biologis.

3. Isolasi *Thiobacillus* spp.

Untuk menguji apakah benar bahwa tanah yang menunjukkan uji BAPP positif dikatalis oleh BOS, maka perlu dilakukan isolasi bakteri tersebut pada media selektif yang sesuai. Pada penelitian ini akan diisolasi *Thiobacillus ferrooxidans* karena bakteri ini mudah dikenali dari perubahan media dari kuning pucat menjadi jingga. Adapun tahapan percobaan untuk mengisolasi *T. ferrooxidans* adalah sebagai berikut:

a. Penyiapan media cair

Bahan-bahan kimia media yang terdiri atas $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (3g), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,5g), K_2HPO_4 (0,5g), $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (0,01g), KCl (0,1g) dicampur dan ditambahkan dengan aquades sebanyak 800 ml kemudian diaduk dan disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 1 atmosfer kemudian didinginkan (larutan I). Larutan $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ disiapkan secara terpisah, dengan cara memasukkan 30 gram bahan tersebut kedalam aquades yang telah steril sebanyak 200 ml (larutan II). Sebelum $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dimasukkan ke dalam aquades steril, pH larutan diatur menjadi 2,5 dengan menambah larutan H_2SO_4 dan dipanaskan pada suhu 50°C , setelah pH mencapai 2,5 kemudian larutan didinginkan. Kedua larutan tersebut dicampur secara aseptik pada *laminar air flow*. Media ini kemudian dimasukkan ke dalam beberapa tabung isolasi (volume 10 ml) yang telah disterilkan.

b. Isolasi dan karakterisasi bakteri

Dari hasil uji BAPP diambil 10 contoh tanah secara acak masing-masing seberat 10 gram untuk dilakukan isolasi terhadap bakteri *T. ferrooxidans* pada media cair. Isolasi ini juga dimaksudkan untuk membandingkan antara tanah yang memberikan hasil BAPP test positif (+) dan negatif (-) apakah dikoloni oleh bakteri *Thiobacillus* spp atau tidak. Pertumbuhan bakteri diberi tanda positif (+) apabila terjadi perubahan warna media menjadi kuning jingga (karat).

Setelah media cair siap selanjutnya dimasukkan 10 gram contoh tanah ke dalam media tersebut. Kultur selanjutnya diinkubasi di atas *shaker* dengan kecepatan 50 rpm. Diamati perubahan warna medium selama 3-4 minggu. Isolat dinyatakan tumbuh apabila terjadi perubahan warna medium dari kuning pucat menjadi kuning kecoklatan (jingga). Sebagai pembanding adalah media yang tidak diberi tanah.

Untuk meyakinkan bahwa yang tumbuh adalah *Thiobacillus ferrooxidans* perlu dilakukan isolasi bakteri yang tumbuh pada media cair ke dalam media padat. Media padat adalah media cair (Nurseha, 2000) yang pH-nya diatur menjadi

3,5 kemudian ditambah agar 20 gram per liter media. Isolasi dilakukan dengan cara mengambil satu ml isolat dari medium cair kemudian dipindahkan ke dalam cawan petri yang sudah disterilkan. Selanjutnya diatas isolat dituangkan media padat sebanyak 9 ml kemudian diinkubasi selama 4 minggu. Isolat dinyatakan tumbuh apabila di atas media tumbuh koloni dengan karakter berwarna kuning karat, berlendir dengan elevasi cembung. Disamping itu karakterisasi juga dilakukan melalui pewarnaan Gram (Pelczar & Chan, 1986).

c. Akurasi Uji BAPP

Untuk mengetahui akurasi (ketepatan) uji BAPP maka dihitung jumlah contoh yang diisolasi yang menunjukkan hasil sama dengan uji BAPP (baik positif maupun negatif) dibandingkan dengan jumlah seluruh contoh yang diisolasi, seperti rumus berikut:

$$\frac{\text{Jumlah contoh yang menunjukkan hasil isolasi sejalan dengan hasil uji BAPP}}{[\text{seluruh contoh yang diisolasi}]} \times 100\%$$

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji BAPP menunjukkan bahwa dari 24 contoh tanah yang diuji, 22 contoh tanah menunjukkan hasil positif (Tabel 1), yaitu kultur yang setelah diinkubasi selama 48 jam ditambah 24 jam tetap menunjukkan nilai $\text{pH} < 3,5$. Hal ini menunjukkan bahwa sebagian besar (91,67%) proses pemasaman lahan pada contoh tanah yang diuji dikatalis secara biologis oleh bakteri.

Uji BAPP ini dapat digunakan untuk mengetahui biokatalisasi air asam tambang secara cepat (hanya memerlukan waktu paling lama tiga hari). Apabila pemasaman lahan dikatalis secara biologi maka pada perencanaan kegiatan rehabilitasi lahan harus mempertimbangkan upaya pengendalian populasi BOS. Hal ini seperti telah disebutkan di atas bahwa pada lahan yang potensi pemasamannya dikatalis oleh BOS reaksinya dipercepat ratusan ribu kali lipat apabila dibandingkan dengan reaksi yang terjadi secara kimia (Evangelou & Chang, 1995).

Contoh yang terambil secara acak untuk uji isolasi mewakili hasil uji BAPP positif dan negatif, adalah MTS Selokan (+), NAL MTS-02 (+), TAL 701-02 (+), Bangko Barat GPT 3-02 (+), Bangko Barat TPU 1-01 (+), Bangko Barat GPT 1-01 (+) dan ALPT -02 (+) dan TAL Mahayung 3-02 (-). Tabel 2 menunjukkan bahwa pada lahan yang menunjukkan hasil uji BAPP positif dapat ditemukan bakteri *T. ferrooxidans* yang ditandai

dengan berubahnya warna media menjadi kuning karat atau jingga (Gambar 1). Sedangkan pada tanah yang menunjukkan hasil uji BAPP negatif tidak ditemukan populasi *Thiobacillus* spp., yaitu pada lokasi TAL Mahayung. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa uji BAPP dapat digunakan untuk mengetahui ada tidaknya biokatalisasi air asam tambang oleh bakteri (Brierly & Brierly, 1999 dalam Widyati 2006).

Tabel (Table)1. Hasil Uji BAPP pada Lahan Bekas Tambang Batubara (Result of BAPP test on ex-coal mining)

Contoh tanah (Soil sample)	pH			Indikasi hasil uji (Indication of test result)
	0 jam (hour)	48 jam (hour)	72 jam (hour)	
MTS Selokan	2,38	2,44	2,05	+
MTS Dinding Pinggir Selokan	2,12	1,94	1,78	+
NAL MTS-1	2,02	1,84	1,65	+
NAL MTS-2	2,14	1,99	1,77	+
TAL 701-1	2,45	2,40	2,19	+
TAL 701-2	2,48	2,34	2,12	+
TAL 702-1	2,36	2,14	2,00	+
TAL 702-2	2,40	2,20	2,10	+
TAL Mahayung 3-1	2,46	3,98	-	-
TAL Mahayung 3-2	2,50	3,88	-	-
Bangko Barat GPT 3-1	2,50	2,89	3,49	+
Bangko Barat GPT 3-2	2,28	2,14	1,98	+
Bangko Barat GPT 3-3	2,36	2,20	1,99	+
Bangko Barat TPU 1-1	2,12	2,00	1,80	+
Bangko Barat TPU 1-2	2,47	2,33	1,96	+
Bangko Barat TPU 1-3	2,43	2,40	2,25	+
Bangko Barat TPU 1-4	2,10	1,92	2,04	+
Bangko Barat TPU 1-5	2,46	2,45	2,37	+
Bangko Barat TPU 1-6	2,36	2,58	1,88	+
Bangko Barat GPT 1-1	2,10	1,95	1,68	+
Bangko Barat GPT 1-2	2,48	2,57	2,44	+
ALPT-1	2,35	3,31	3,39	+
ALPT-2	2,49	3,30	3,40	+
ALPT-3	2,46	3,32	3,41	+

Keterangan (Remarks) : += berpotensi memasamkan lahan secara biologi (potential to biologically acid the land)
= tidak berpotensi (no potential)

Pada penelitian ini, bakteri pengoksidasi sulfur (BOS) dapat hidup pada tanah-tanah yang dijadikan sampel karena tanah tersebut mempunyai sifat-sifat kimia yang cocok untuk pertumbuhan bakteri tersebut. Menurut Nurseha (2000), *Thiobacillus* spp. hidup pada kisaran pH yang asam (asidofilik), mendapatkan energi dari oksidasi besi dan atau sulfur (*T. ferrooxidans*), obligat autotrof yang tidak dapat menggunakan senyawa organik untuk menyusun sel-sel tubuhnya (untuk pertumbuhan dan per-

banyakannya) serta obligat aerob yang memerlukan oksigen bebas sebagai aseptor elektron untuk metabolisme selnya. Hasil analisis kimia tanah (Tabel 3) menunjukkan bahwa tanah bekas tambang batubara pada penelitian ini mempunyai kisaran pH 2,3 - 4,53 yang tergolong masam, kandungan C organik 1% yang tergolong rendah, kandungan sulfur tinggi (mencapai 83.900 ppm) serta kandungan besi juga tinggi (mencapai 1204 ppm).



Gambar (Figure) 1. *T. ferrooxidans* yang terisolasi dari contoh tanah bekas tambang batubara, ditandai dengan berubahnya warna media menjadi jingga (kiri), warna media kontrol tidak berubah (kanan) (*T. ferrooxidans isolated from ex-coal mining soil. It's growth is indicated by medium color alteration to yellow-reddish (left) compared to unchanged color in the control (right)*)

Tabel (Table) 2. Hasil isolasi *T. ferrooxidans* pada medium selektif cair (*T. ferrooxidans isolated into the selective broth medium*)

Contoh tanah (Soil sample)	Hasil uji BAPP (Result of BAPP test)	Ulangan 1 (Replication)	Ulangan 2 (Replication)	Ulangan 3 (Replication)
MTS Selokan	+	+	+	+
NAL MTS-2	+	+	-	+
TAL 701 -2	+	+	+	+
TAL 702 -1	+	-	+	+
TAL Mahayung 3-2	-	-	-	-
Bangko Barat GPT 3-2	+	-	-	-
Bangko Barat TPU 1-1	+	+	+	+
Bangko Barat TPU 1-4	+	+	+	+
Bangko Barat GPT 1-1	+	+	+	+
ALPT-2	+	+	+	-

Keterangan (Remarks):

Uji BAPP: uji *Biological Acid Producing Potential* (*Biological Acid Producing Potential Test*)

(+) : media berubah warna menjadi kuning karat (jingga) (*media changes it's colour into yellowish-orange*)

(-) : tidak terjadi perubahan warna media (*no colour change*)

Hal yang menarik ditemukan pada contoh tanah yang diambil dari Bangko Barat GPT 3-2 (Tabel 2). Contoh tanah tersebut menunjukkan hasil uji BAPP yang positif namun tidak ditemukan populasi *T. ferrooxidans*. Hal ini karena pada penelitian ini medium yang digunakan untuk mengisolasi bakteri adalah medium untuk *Thiobacillus ferrooxidans* yang mempunyai kandungan Fe sangat tinggi. Pada penelitian ini, tidak semua contoh tanah

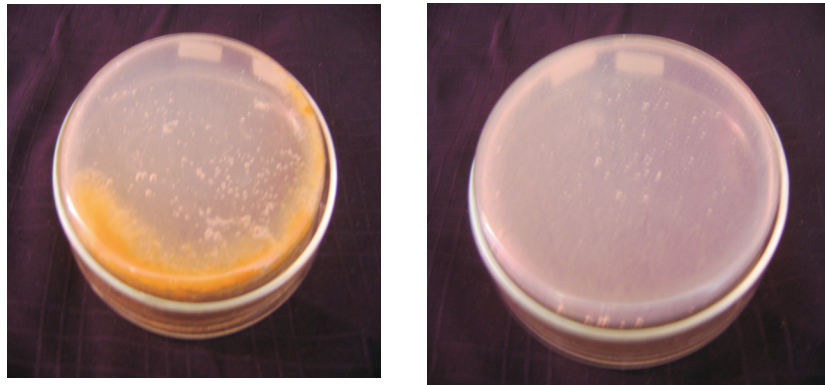
dianalisis kandungan Fe-nya sehingga hal ini merupakan kelemahan dari penelitian ini. Kuat dugaan bahwa bakteri yang berperan sebagai biokatalisator pada contoh tanah tersebut bukan spesies *T. ferrooxidans* tetapi BOS dari kelompok yang lain. Menurut Santosa (komunikasi pribadi) selain genus *Thiobacillus*, pemasaman lahan juga dapat dikatalis oleh genus *Sulfolobus* dan *Leptospirillum*.

Tabel (Table) 3. Hasil analisis kimia contoh tanah (*Chemical performance of soil samples*)

Variabel (Variable)	Contoh tanah (<i>Soil sample</i>)		
	Mahayung - 02	TAL 701 - 02	ALP - 02
Hasil Uji BAPP	-	+	+
Hasil Isolasi BOS	Tak tumbuh	tumbuh	tumbuh
pH	4,53	3,10	2,30
C ⁻ org (%)	3,43	1,21	1,01
Fe (ppm)	417	1018	1204
S (ppm)	37.600	71.000	83.900

Akurasi uji BAPP pada penelitian ini dihitung dari rumus di atas adalah 80%. Dengan demikian melalui uji BAPP ini kemungkinan terjadinya kesalahan untuk menentukan bahwa

pada lahan bekas tambang yang akan dilakukan rehabilitasi perlu dilakukan pengendalian populasi BOS sekitar 20%.



Gambar (Figure) 2. Koloni *T. ferrooxidans* pada media Starkey agar (kiri), kontrol (kanan) (*T. ferrooxidans colony on Starkey is agar medium (left) and non inoculated medium as control (right)*)

Untuk lebih meyakinkan bahwa yang mengubah warna media menjadi kuning karat (jingga) adalah bakteri *Thiobacillus ferrooxidans* maka baik media yang diberi tanah maupun yang tidak diberi tanah (kontrol) dilakukan isolasi pada media padat yang khusus untuk menumbuhkan bakteri tersebut. Hasilnya pada media yang tidak diberi tanah menunjukkan tidak terjadi pertumbuhan bakteri (Gambar 2). Pada media yang tidak diberi tanah juga menunjukkan perubahan warna media yang menunjukkan adanya oksidasi besi ferro menjadi ferri. Reaksi tersebut juga dapat terjadi karena adanya oksigen pada media yang didapatkan pada waktu pengocokan (inkubasi) di atas *shaker*.

IV. KESIMPULAN

Hasil uji BAPP menunjukkan bahwa 22 dari 24 (91%) contoh tanah dari lahan bekas tambang batubara yang diuji memberikan hasil positif. Pengujian katalisasi biologis oleh bakteri menggunakan uji BAPP pada penelitian ini mempunyai akurasi 80%. Hal ini menunjukkan bahwa sebagian besar proses pemasaman lahan pada tanah yang diuji terdapat katalisasi secara biologi oleh bakteri pengoksidasi sulfur (BOS). Salah satu bakteri yang ditemukan mengkatalis pemasaman lahan adalah *Thiobacillus ferrooxidans*.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, M. 1977. *Introduction to Soil Microbiology*. John Willey & Son. New York.
- Evangelou, V. P. dan Y. L. Zhang. 1995. *A Review: Pyrite Oxidation Mechanisms and Acid Mine Drainage Prevention. Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 25(2):141-199.
- Havlin, L.J., J.D. Beaton., S.L. Tisdale dan W.L. Nelson. 1999. *Soil Fertility and Fertilizers*. An introduction to nutrient management. Prentice Hall. New Jersey.
- Holt, J. G., N. R. Krieg, P. H. A. Sneath, J. T. Staley dan S. T. William. 1994. *Bergeys Manual of Determinative Bacteriology, 9th Edition*. William dan Wilkins, Baltimore. USA.
- Nurseha. 2000. Isolasi dan Uji Aktivitas Bakteri Asidofilik Pengoksidasi Besi dan Sulfur dari Ekosistem Air Hitam. Tesis. Program Pasca Sarjana. IPB. Bogor.
- Pelczar, M.J. dan E.C.S Chan. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi (terjemahan)*. Penerbit UI Press. Jakarta.
- Widyati, E. 2006. Bioremedrasi Tanah Bekas Tambang Batubara dengan *Sludge* Industri Kertas untuk Memacu Revegetasi Lahan. Disertasi. Program Pendidikan Doktor, Sekolah Pasca Sarjana IPB. Bogor (tidak dipublikasikan).
- Widyati, E. 2008. Pencegahan *Acid Mine Drainage* melalui Pengendalian Populasi *Thiobacillus* spp. dengan Manajemen Bahan Organik Tanah. Makalah disampaikan pada Seminar Air Asam Tambang dan Reklamasi Lahan Bekas Tambang di Indonesia ke-3. Bandung, 1-2 Juli 2008.