

Biodegradasi Limbah Minyak Berat Menggunakan Isolat Tunggal dan Campuran dengan Penambahan Alkilbenzena Sulfonat Linear

Charlena¹, Zainal Alim Mas'ud¹, Mohamad Yani², Ahmad Sjahriza¹, Joko G Tarigan¹

¹Departemen Kimia FMIPA IPB
Gedung Fakultas Peternakan W2, Jl Agatis Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680
Telp/Fax : 0251-8633579
Email: karlena_22@yahoo.co.id

Abstrak-Tumpahan minyak sering terjadi dalam kegiatan industri perminyakan yang dapat mencemari lingkungan. Bioremediasi adalah salah satu metode paling aman untuk mengangani lingkungan yang tercemar minyak bumi dengan memanfaatkan bakteri. Bakteri diisolasi dari tanah yang tercemari minyak berat yang diberi kotoran sapi dan kuda. Proses biodegradasi ditingkatkan dengan penambahan alkilbenzena sulfonat linear (LAS). Tiga isolat terbaik dan kombinasinya diaplikasikan untuk mendegradasi limbah minyak berat dengan tambahan alkilbenzena sulfonat linear. Parameter yang diamati adalah *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH) padat, TPH cair, *Total Plate Count* (TPC), Kebutuhan Oksigen Kimiawi (KOK), dan pH. MY7, MY12, dan MYFlr dipilih sebagai 3 isolat terbaik karena memiliki nilai persentase degradasi yang paling tinggi, yaitu 32.26, 58.25, dan 40.74%. Penambahan alkilbenzena sulfonat linear mampu meningkatkan kelarutan minyak bumi di dalam air sehingga terjadi penurunan nilai TPH padat, kenaikan TPH cair, serta kenaikan nilai KOK. Nilai TPH padat pada kombinasi tiga isolat hari ke-21 sebesar 2.33% (b/b), nilai TPH cair sebesar 1.68% (b/v), dan nilai KOK sebesar 246456 mg/mL. Persentase degradasi kombinasi tiga isolat hari ke-21 adalah 81.56%. Kombinasi tiga isolat lebih mampu mendegradasi limbah minyak berat dibandingkan isolat tunggal.

Kata Kunci- biodegradasi, limbah minyak berat, isolat tunggal dan campuran, LAS

I. Pendahuluan

Kegiatan industri perminyakan, mulai dari eksplorasi, eksploitasi, pengolahan sampai pengangkutan semakin meningkat. Hal ini sejalan dengan meningkatnya kebutuhan manusia akan minyak bumi sebagai sumber energi yang utama, terutama dalam pengembangan industri, transportasi, dan rumah tangga. Indonesia sebagai salah satu negara penghasil minyak bumi memproduksi 1320 juta barrel per hari untuk memenuhi permintaan minyak dunia (Zacky 2005). Namun, selama kegiatan industri perminyakan sering terjadi tumpahan atau buangan baik secara sengaja maupun tidak sengaja yang dapat mencemari lingkungan (Udiharto 1996).

Pencemaran yang dihasilkan oleh limbah buangan minyak bumi dapat terjadi pada lingkungan perairan maupun daratan. Pencemaran minyak bumi di tanah merupakan ancaman yang serius bagi kesehatan manusia. Minyak bumi yang mencemari tanah dapat mencapai lokasi air tanah, danau atau sumber air yang menyediakan air bagi kebutuhan domestik maupun industri sehingga menjadi masalah serius bagi daerah yang mengandalkan air tanah sebagai sumber

utama kebutuhan air bersih atau air minum. Pencemaran minyak bumi, meskipun dengan konsentrasi hidrokarbon yang sangat rendah sangat mempengaruhi bau dan rasa air tanah (Nugroho 2006). Jika suatu lingkungan daratan dicemari oleh fraksi berat minyak bumi maka pertumbuhan tanaman dan organisme lain yang hidup di dalamnya akan sangat terganggu. Dengan kata lain pencemaran ini akan mengurangi kualitas dan daya dukung lingkungan terhadap makhluk hidup (Jamilah 2005). Oleh karena itu diperlukan penanggulangan limbah minyak bumi yang aman bagi lingkungan.

Sebenarnya lingkungan itu sendiri memiliki kemampuan untuk mendegradasi senyawa-senyawa pencemar yang masuk ke dalamnya melalui proses biologis dan kimiawi. Namun, sering kali beban pencemaran di lingkungan lebih besar dibandingkan dengan kecepatan proses degradasi zat pencemar tersebut secara alami. Akibatnya, zat pencemar akan terakumulasi sehingga dibutuhkan campur tangan manusia dengan teknologi yang ada untuk mengatasi pencemaran tersebut. Salah satu metode paling cepat dan aman bagi lingkungan adalah degradasi limbah minyak bumi dengan memanfaatkan mikroorganisme atau biasa

disebut bioremediasi. Keberadaan mikroorganisme (bakteri, jamur, dan Khamir) pendegradasi hidrokarbon tersebar luas di alam. Mikroorganisme tertentu dapat mendegradasi senyawa hidrokarbon dan menggunakannya sebagai sumber energi (Nurhariyani *et al.* 2006).

Tidak semua mikroorganisme dapat mendegradasi senyawa hidrokarbon minyak bumi. Hanya mikroorganisme yang dapat beradaptasi dengan senyawa hidrokarbon yang dapat melakukannya. Mikroorganisme pendegradasi senyawa hidrokarbon dapat diisolasi dari tanah atau lingkungan yang tercemar minyak bumi ataupun diisolasi dari tanah setelah ditambahkan mikroorganisme pengurai untuk melengkapi mikroorganisme yang telah ada. Isolat-isolat ini dapat digunakan untuk mendegradasi senyawa hidrokarbon secara spesifik, baik dalam keadaan tunggal maupun campuran. Menurut Hikmatuloh (2004), kombinasi antara kedua isolat atau lebih memiliki kemampuan mendegradasi yang lebih baik dibandingkan dengan isolat tunggalnya. Hal ini ditunjukkan dengan kekeruhan kombinasi isolat (*Pseudomonas aeruginosa* + *Enterobacter agglomerans*) lebih cepat dibanding dengan isolat tunggal (*Pseudomonas aeruginosa* dan *Enterobacter agglomerans*).

Biodegradasi akan lebih cepat terjadi apabila minyak dalam bentuk dispersi. Minyak bumi akan lebih mudah terdispersi dalam air bila ditambahkan surfaktan. Surfaktan memiliki gugus polar dan non-polar dalam satu molekulnya. Surfaktan akan mengikat minyak pada gugus non-polar dan air pada gugus polar sehingga memudahkan bakteri kontak dengan sumber karbon sebagai makanannya. Penelitian Poloroso (2005), menunjukkan bahwa linier alkilbenzena sulfonat (LAS) mampu meningkatkan kinerja mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon. Hal ini terlihat dari peningkatan persentase degradasi pada minggu ke-3 sebesar 18.09% (tanpa penambahan surfaktan) menjadi 21.94% setelah ditambah surfaktan. Semakin tinggi stabilitas emulsi dari suatu surfaktan maka mikroorganisme akan semakin mudah mendegradasi hidrokarbon. Penelitian Rony (2009), menunjukkan bahwa stabilitas emulsi linier alkilbenzena sulfonat (LAS) optimum pada konsentrasi 0.04%. Oleh karena itu dalam penelitian ini akan diuji kemampuan isolat tunggal dan campuran dalam mendegradasi limbah minyak berat dengan penambahan linier alkilbenzena sulfonat (LAS).

II. Metodologi Penelitian

A. Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang akan digunakan adalah isolat yang telah diisolasi dari tanah tercemar yang telah diberi kotoran sapi dan kuda, *heavy oil waste* (HOW), solar, air laut, *marine broth* (Lampiran 2), linier alkilbenzena sulfonat (LAS), heksana, spirtus, Na₂SO₄ anhidrat, silika gel, NaCl, larutan baku FAS, indikator feroin, H₂SO₄ pekat, AgSO₄, K₂Cr₂O₇, indikator universal, akuades, aluminium foil, dan kertas saring.

Alat-alat yang digunakan adalah erlenmeyer, desikator, neraca analitik, penggiling, sarung tangan, masker, gelas ukur, labu bulat, refluks, sumbat kapas, buret, pipet volumetrik, pipet mohr, pipet mikro, tip, pemanas, radas uap

putar, *shaker incubator*, autoklaf, cawan petri, labu takar, inkubator, tabung KOK, dan kondensor tegak.

B. Metode Penelitian

1) Pembiakan Isolat (Hadjoetomo 1998)

Bakteri yang digunakan sebanyak 7 isolat dan telah diisolasi dari tanah tercemar yang diberi kotoran sapi dan kuda. Ketujuh isolat ini diketahui memiliki kemampuan dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon. Peremajaan masing-masing isolat dilakukan pada media miring *marine agar* (Lampiran 2). Sebanyak 100 mL *marine agar* disiapkan di dalam erlenmeyer kemudian sebanyak 5 mL *marine agar* dipipet dan dimasukkan ke dalam tabung biakan atau tabung reaksi. Tabung tersebut disumbat kapas dan disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Setelah disterilisasi, tabung diletakkan pada papan miring dan dibiarkan menjadi dingin dan padat. Secara aseptis masing-masing bakteri diinokulasikan pada agar miring tersebut dan inkubasi pada suhu 30 °C selama 24 jam. Bakteri tersebut masing-masing ditumbuhkan dalam agar miring sebagai stok.

2) Penyiapan inokulan pada Media Kaya dan Media Minimal

Masing-masing isolat ditumbuhkan terlebih dahulu pada media kaya dan media minimal sebelum diaplikasikan pada limbah minyak berat. Media kaya dibuat dalam erlenmeyer 250 mL dan diberi sumbat kapas dengan komposisi pada Tabel 1 dan disterilisasi pada suhu 121 °C selama 15 menit. Kemudian secara aseptis bakteri diinokulasikan dengan ose pada media kaya tersebut dan digoyang pada shaker dengan kecepatan 200 rpm selama 3 hari.

Tabel 1
Komposisi media kaya dan media minimal

Bahan	Komposisi (per 100 mL air laut)	
	Media kaya	Media minimal
Yeast ekstrak	1,5	0,5
Pepton	0,3	0,1
Solar *)	-	5

Keterangan ; *) disterilisasi secara terpisah

Setelah ditumbuhkan selama 3 hari pada media kaya, kemudian bakteri sebanyak 1 mL dipindahkan ke dalam media minimal yang telah disterilisasi. Kemudian solar yang telah disterilisasi dengan sinar UV selama 15 menit ditambahkan pada media minimal. Media minimal lalu digoyang pada shaker dengan kecepatan 200 rpm pada suhu kamar selama 7 hari. Penumbuhan bakteri pada media minimal dilakukan sebanyak 3 kali.

3) Seleksi Isolat

Sebanyak 25 g *heavy oil waste* (HOW), 0.1 g yeast ekstrak, dan 0.5 pepton ditimbang lalu ditempatkan dalam erlenmeyer 250 ml, kemudian ditambahkan 100 ml air laut dan disumbat kapas. Lalu disterilisasi di dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121° C, kemudian didinginkan. Sebanyak 1 ml inokulan ditambahkan secara aseptis menggunakan pipet mikro. Kemudian diaduk di dalam shaker. Lalu dilakukan analisis TPH cair, TPH padat, TPC,

pH, dan COD masing-masing untuk hari ke-0, 3, 7, 14, dan 21. Dari tahap ini diperoleh 3 isolat terpilih yang akan diaplikasikan dengan penambahan linear alkilbenzena sulfonat (LAS).

4) *Aplikasi Isolat Tunggal dan Kombinasi Isolat pada Tanah Tercemar dengan Penambahan linier alkilbenzena sulfonat (LAS).*

Sebanyak 3 isolat (A, B, dan C) dengan kinerja degradasi terbaik hasil dari tahap seleksi isolat serta kombinasinya (AB, AC, BC, dan ABC) diaplikasikan untuk mendegradasi *heavy oil waste* (HOW) dengan penambahan linier alkilbenzena sulfonat (LAS). Langkah pembuatan slurry sama seperti pada tahap seleksi isolat. Hanya saja, ditambahkan linier alkilbenzena sulfonat (LAS) sebanyak 4 gram sebelum disterilisasi dalam autoklaf. Setiap hari ke-0, 3, 7, 14, dan 21, aplikasi tersebut secara rutin dianalisis TPH cair, TPH padat, TPC, pH, dan COD.

5) *Pengukuran TPH Cair (U.S. EPA Method 1999)*

Sebanyak 50 mL larutan surfaktan yang telah dicampur dengan limbah minyak disaring kemudian diekstrak dengan corong pisah menggunakan 25 mL heksana sebanyak dua kali. Kandungan air pada ekstrak dihilangkan dengan menambahkan Na_2SO_4 anhidrat, kemudian disaring. Pelarut dihilangkan menggunakan radas penguap putar setelah itu dipanaskan dalam oven selama 45 menit pada suhu 70°C . Wadah dan sampel didinginkan dalam desikator lalu ditimbang. Bobot yang terukur adalah bobot minyak dan lemak. Sampel hasil pengeringan dilarutkan kembali dengan heksana dan ditambahkan silika gel untuk menghilangkan senyawa-senyawa polar dan disaring. Pelarut diuapkan kembali dan dipanaskan dalam oven, bobot yang terukur merupakan residu minyak (nilai TPH).

6) *Pengukuran TPH Padat (U.S. EPA Method 1998)*

Limbah minyak sebanyak 5 gram diekstraksi dengan soklet menggunakan 100 mL heksana. Kandungan air pada ekstrak dihilangkan dengan menambahkan Na_2SO_4 anhidrat, kemudian disaring. Pelarut dihilangkan menggunakan radas penguap putar setelah itu dipanaskan dalam oven selama 45 menit pada suhu 70°C . Wadah dan sampel didinginkan dalam desikator lalu ditimbang. Bobot yang terukur adalah bobot minyak dan lemak. Sampel hasil pengeringan dilarutkan kembali dengan heksana dan ditambahkan silika gel untuk menghilangkan senyawa-senyawa polar dan disaring. Pelarut diuapkan kembali dan dipanaskan dalam oven, bobot yang terukur merupakan residu minyak (nilai TPH).

7) *Total Plate Count (TPC) (Hadjoetomo 1998)*

Larutan garam fisiologis dibuat dengan konsentrasi NaCl 0.85 % (b/v) dalam akuades. Larutan garam fisiologis ini dipipet masing-masing 9 mL ke dalam tabung ulir dengan label 10^{-1} sampai 10^{-8} . Tabung ulir disterilisasi dengan isinya pada 121°C selama 15 menit. Selain itu, disterilisasi juga pada suhu dan selang waktu yang sama marine agar, cawan petri dan tip untuk mikropipet yang akan digunakan. Setelah sterilisasi selesai, dinginkan tabung ulir.

Sebanyak 1 mL sampel dimasukkan dalam tabung ulir yang berlabel 10^{-1} . Tabung ulir dikocok sehingga benar-

benar merata pencampurannya. Sebanyak 1 mL dari tabung ulir yang berlabel 10^{-1} dipipet lalu dimasukkan dalam tabung ulir yang berlabel 10^{-2} . Tabung ulir dengan label 10^{-2} dikocok lalu dipipet 1 mL dan dimasukkan dalam tabung ulir yang berlabel 10^{-3} . Pipipetan dan pengocokan ini dilakukan pada setiap tabung ulir sampai dengan pengenceran/tabung ulir berlabel 10^{-8} . Dari semua tabung ulir ($10^{-1} - 10^{-8}$), dipipet masing-masing 1 mL ke dalam cawan petri terpisah (berlabel 10^{-1} sampai 10^{-8}) yang sudah di sterilisasi. Larutan *marine agar* (MA) yang sudah agak dingin dan belum padat dituang ke cawan petri. MA ditunggu hingga padat lalu masukkan ke dalam inkubator, lalu diinkubasi selama 1 – 2 hari. Koloni yang tampak terbentuk pada cawan petri dihitung setelah 1 atau 2 hari tersebut. Nilai yang dapat diterima antara 30 – 300.

8) *Analisis KOK (Clesceri et al. 2005)*

Sebanyak 2.5 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung KOK. Kemudian 1.25 mL larutan campuran kalium dikromat-merkuri sulfat dipipet ke dalam sampel. Setelah itu, ditambahkan 2.5 mL larutan campuran asam sulfat-perak sulfat dan campuran diaduk kemudian ditutup. Tahap diatas diulangi pada 2.5 mL air suling sebagai blanko. Setelah masing-masing unit pengaman pada tutup dipasang, tabung dimasukkan ke dalam oven pada suhu 150°C . Setelah 2 jam, tabung KOK dikeluarkan dari dalam oven dan dibiarkan hingga dingin. Campuran dari tabung KOK dipindahkan ke dalam labu erlenmeyer 100 mL dan dibilas dengan 2.5 mL air suling. Lalu, 0.5 mL asam sulfat pekat dan 2 tetes larutan indikator feroin ditambahkan secara berturut-turut ke dalam campuran. Campuran dititrasi dengan larutan baku fero amonium sulfat 0,05 N yang telah distandardisasi sampai terjadi perubahan warna dari hijau menjadi merah coklat lalu dicatat volume pemakaian larutan baku fero amonium sulfat

9) *Analisis pH*

Nilai pH diukur dengan menggunakan indikator pH universal. Sebanyak 10 mL sampel dipipet ke dalam gelas piala. Kertas indikator dicelupkan ke dalam sampel, lalu dibaca pH-nya.

III. Hasil dan Pembahasan

A. *Pembiakan Isolat*

Pembiakan isolat merupakan proses yang penting dalam penelitian mikrobiologi. Pembiakan atau peremajaan isolat bertujuan untuk mendapatkan isolat yang aktif. Sebab sebelumnya isolat tersebut berada dalam keadaan inaktif di dalam media *marine agar* (MA). Isolat aktif inilah yang akan diaplikasikan pada tahap selanjutnya. Selain itu, pembiakan isolat juga bertujuan untuk menghasilkan stok isolat. Stok isolat ini dipelihara dalam keadaan hidup untuk waktu yang cukup lama (Pelczar & Chan 2007).

B. *Penyiapan inokulan pada Media Kaya dan Media Minimal*

Penyiapan inokulan pada media kaya dilakukan selama 3 hari. Penggunaan media kaya bertujuan agar isolat dapat

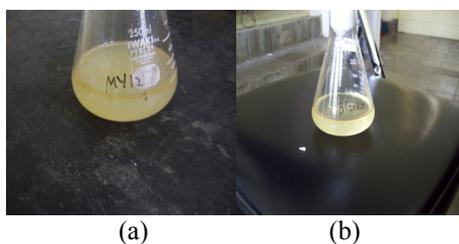
tumbuh dengan cepat. Pertumbuhan isolat ini ditandai dengan terjadinya kekeruhan pada media yang diberi isolat setelah 3 hari (Gambar 3).



Gambar 3 MY 12 dan blanko setelah 3 hari

Penyiapan inokulan pada media minimal dengan penambahan solar 5%(v/v) dilakukan selama 21 hari dengan penyegaran media setiap 7 hari sekali. Penambahan solar 5% bertujuan sebagai sumber karbon yang akan digunakan isolat sebagai sumber energi, disamping nutrisi dari media minimal. Pada tahap ini terjadi proses aklimatisasi, yaitu penyesuaian isolat terhadap lingkungan baru, dalam hal ini lingkungan yang kaya hidrokarbon sehingga isolat dapat diaplikasikan terhadap tanah yang tercemar limbah minyak berat.

Pengamatan visual selama 21 hari menunjukkan adanya perubahan warna pada media yang diberi isolat. Media minimal yang diberi isolat dan solar 5% lama-kelamaan menjadi keruh (Gambar 4a). Hal ini tidak terjadi pada blanko (Gambar 4b). Solar yang semula menyatu dan membentuk lapisan sendiri di permukaan media lama-kelamaan terpecah menjadi butiran-butiran yang lebih kecil. Terbentuknya butiran-butiran kecil ini disebabkan adanya biosurfaktan yang diproduksi oleh isolat bakteri.



Gambar 4 MY 12 (a) dan blanko (b) setelah 21 hari

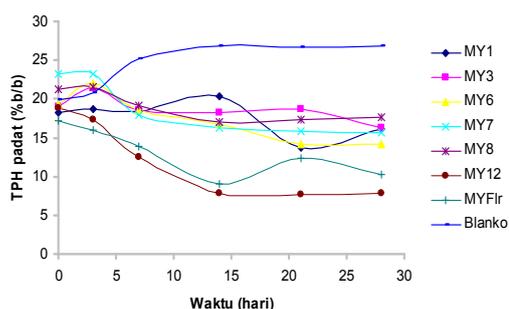
Menurut Al-Tahhan *et al.* (2000), dalam meningkatkan proses biodegradasi minyak, terjadi dua mekanisme yang dilakukan oleh biosurfaktan. Pertama, biosurfaktan dapat melarutkan senyawa hidrofobik pada struktur sel yang dapat meningkatkan daya larut antara minyak dengan media, sehingga dapat dipergunakan oleh sel. Kedua, biosurfaktan dapat menyebabkan permukaan sel menjadi lebih hidrofobik yang dapat meningkatkan interaksi antara sel dengan minyak sehingga akan menurunkan tegangan permukaan pada minyak.

Leahly dan Colwell (1990), telah menemukan bahwa sebagian bakteri pendegradasi hidrokarbon diketahui memiliki kemampuan untuk memproduksi biosurfaktan. *Pseudomonas aeruginosa* diketahui memproduksi rhamnolipid pada C₁₂ n-alkana sebagai biosurfaktan sedangkan *Enterobacter sp* menghasilkan trehalose, sukrosa dan fruktosa lipid sebagai biosurfaktan (Banat 1994).

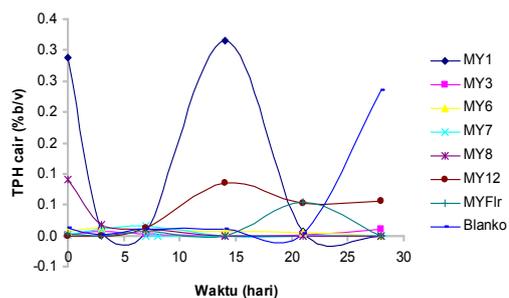
Berdasarkan kekeruhan yang terjadi dan terbentuknya butiran-butiran pada lapisan solar dapat disimpulkan bahwa telah terjadi pertumbuhan isolat. Pemeliharaan isolat selama 21 hari bertujuan untuk menjaga kemampuan isolat agar tetap menghasilkan enzim oksigenase yang diperlukan untuk mendegradasi minyak (Yani & Akbar 2004; Hadi 2004).

C. Seleksi isolat

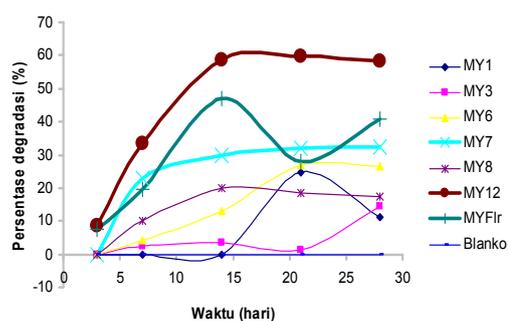
Tahap seleksi isolat bertujuan memilih tiga isolat tunggal dengan kemampuan degradasi yang paling baik. Kemampuan degradasi diukur berdasarkan nilai TPH padat, TPH cair, dan persentase degradasi.



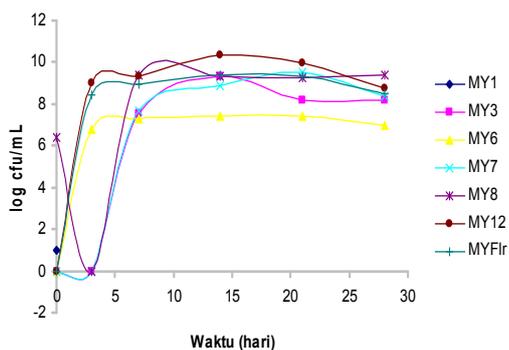
(a)



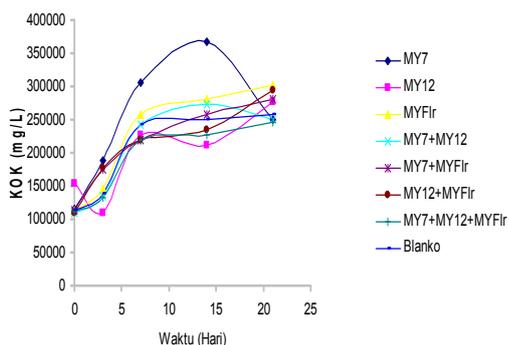
(b)



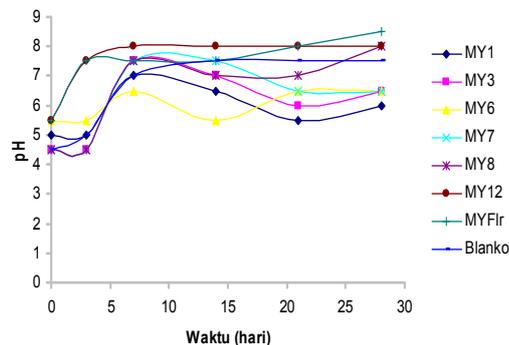
(c)



(d)



(e)



(f)

Gambar 5 Perubahan nilai TPH padat (a), TPH cair (b), Persentase degradasi (c), TPC (d), KOK (e), dan pH (f)

Penurunan nilai TPH padat menunjukkan adanya kemampuan isolat dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon dari limbah minyak berat (Gambar 5a). Berdasarkan nilai TPH padat MY12, MYFlr, dan MY6 memiliki kinerja yang terbaik dengan nilai TPH padat pada hari ke-28 masing-masing 7.90%(b/b), 10.22%(b/b) dan 14.18%(b/b). Pada TPH cair, tidak begitu terlihat karena nilainya sangat kecil, yaitu dibawah 0.3%(v/v) sehingga tidak dapat disimpulkan isolat mana yang memiliki kinerja terbaik. Hal ini disebabkan dispersi minyak ke dalam air sangat rendah sehingga jumlah hidrokarbon di dalam cairan sangat kecil. Persentase degradasi yang terbaik ditunjukkan oleh isolat MY12, MYFlr, dan MY7 sebesar 58.25%, 40.74%, dan 32.26%. Persentase degradasi menggambarkan selisih nilai TPH dibandingkan dengan TPH awalnya. Oleh

karena itu meskipun TPH padat MY6 lebih besar daripada MY7, tetapi persentase degradasinya lebih rendah. Perubahan nilai TPH padat MY6 sekitar 5%, sedangkan MY7 sekitar 8%. Oleh sebab itu MY7 lebih dipilih dibandingkan MY6.

Pada umumnya kenaikan nilai TPC akan diikuti oleh penurunan nilai TPH. Hal ini ditunjukkan dengan kenaikan nilai TPC MY12 dari 2.27×10^9 cfu/mL di hari ke-7 menjadi 2.2×10^{10} cfu/mL di hari ke-14 yang diikuti penurunan nilai TPH padatnya dari 12.58% di hari ke-7 menjadi 7.78% di hari ke-14. Selain MY12, kenaikan TPC yang linier terjadi pada MY7 dan MYFlr (Gambar 5d).

Nilai KOK untuk MY12 dan MYFlr pada awalnya mengalami kenaikan tetapi kemudian mengalami penurunan hingga 8160 mg/mL pada hari ke-28 (Gambar 5e). Hal ini menunjukkan bahwa telah terjadi proses degradasi senyawa hidrokarbon oleh isolat.

Nilai pH mempengaruhi kemampuan isolat dalam mendegradasi hidrokarbon minyak bumi. MY7, MY12, dan MYFlr mempunyai nilai pH diatas 6 setelah hari ke-7 (Gambar 5f). Hal ini membuat ketiga isolat tersebut optimum dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon. Hal ini berkaitan dengan penurunan nilai TPH padat (Gambar 5a).

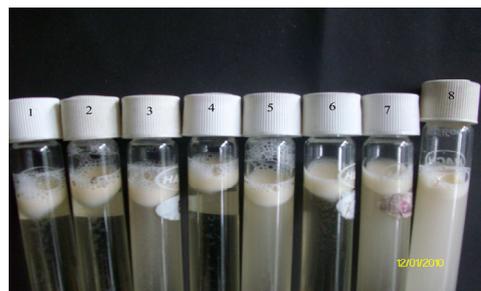
Berdasarkan nilai TPH padat, TPH cair, persentase degradasi, TPC, KOK, dan pH maka ditentukan tiga isolat terbaik, yaitu MY7, MY12, dan MYFlr.

D. Aplikasi isolat dan kombinasinya menggunakan LAS

Pada tahap ini ketiga isolat tunggal serta kombinasinya akan diujikan pada limbah minyak berat dengan penambahan LAS 0.04%(b/v). Penambahan LAS bertujuan untuk meningkatkan kelarutan bagian hidrofobik dari hidrokarbon minyak bumi sehingga dapat menyediakan permukaan senyawa hidrokarbon yang lebih luas melalui pembentukan *mikroemulsi* dan ketersediaan biologis untuk keperluan metabolisme mikroorganisme. Dengan adanya peningkatan kontak antara minyak dan air, maka akan mempermudah masuknya suplai oksigen dan nutrisi yang dibutuhkan mikroorganisme pada permukaan senyawa hidrokarbon tersebut. Kondisi ini sangat membantu mikroorganisme untuk lebih cepat dapat mendegradasikan limbah minyak tersebut (Suardana *et al.* 2002).

E. Pengujian isolat

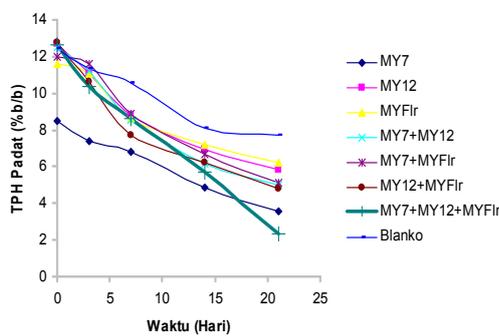
Pengujian isolat dilakukan dengan menginokulasikan isolat ke dalam media minimal dengan penambahan solar 5% dan diamati secara visual.



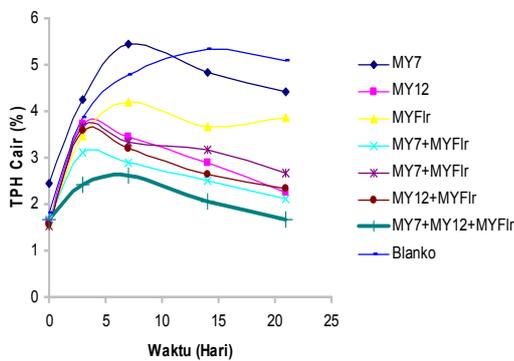
Gambar 6 Pengujian Isolat pada media minimal dengan solar 5% dan penambahan LAS

Pengamatan secara visual pada gambar 6a menunjukkan bahwa kombinasi isolat MY12+MYFlr dan MY7+MY12+MYFlr memiliki kekeruhan yang cukup tinggi serta terbentuknya butiran-butiran kecil pada lapisan solar. Hal ini menandakan terjadi pertumbuhan isolat yang cukup baik. Pada gambar 6b, kombinasi MY7+MY12+MYFlr memiliki kekeruhan yang paling tinggi diantara yang lain sehingga dapat disimpulkan bahwa kombinasi tiga isolat memiliki kinerja terbaik. Kombinasi tiga isolat ini lebih keruh dibandingkan kombinasi tiga isolat tanpa LAS. Hal ini terjadi karena LAS berperan mendispersikan solar ke dalam media sehingga kontak isolat dan solar menjadi lebih mudah.

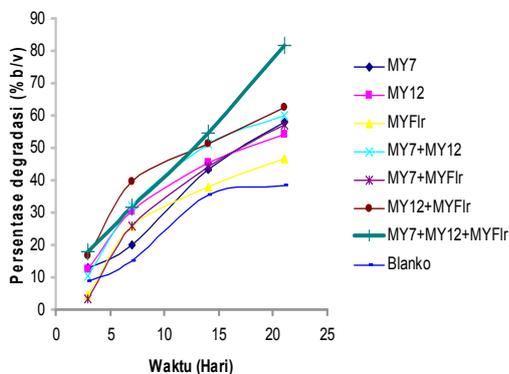
F. Total Petroleum Hydrocarbon (TPH)



(a)



(b)



(c)

Gambar 7 Perubahan nilai TPH padat (a), TPH cair (b), dan persentase degradasi (c) dengan penambahan LAS

Keberhasilan suatu proses bioremediasi limbah minyak bumi ditentukan berdasarkan kandungan akhir dari kadar minyak bumi/ total petroleum hydrocarbon (TPH). Nilai TPH menunjukkan besarnya kandungan kadar hidrokarbon (unsur C dan H) di dalam minyak bumi dan digunakan sebagai acuan utama untuk menilai berhasil atau tidaknya suatu proses biodegradasi senyawa hidrokarbon minyak bumi yang dilakukan (Suardana *et al.* 2002).

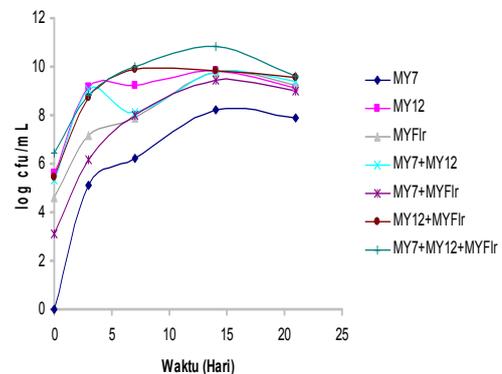
Pada tahap ini terjadi penurunan TPH padat yang cukup besar (Gambar 7a), terutama pada kombinasi tiga isolat, yaitu sebesar 2.33%(b/b) pada hari ke-21. Hal ini juga terjadi pada kombinasi dua isolat yang terbaik yaitu MY12+MYFlr sebesar 4.78%(b/b). Hal ini terjadi karena adanya sinergisme antara masing-masing isolat.

Dispersi minyak ke dalam air akan meningkatkan nilai TPH cair. Nilai TPH cair meningkat di hari ke-3 (Gambar 7b) kemudian mengalami penurunan hingga hari ke-21. Hal ini dikarenakan pada hari ke-3 terjadi peningkatan kontak antara isolat dan minyak sehingga jumlah senyawa hidrokarbon mulai berkurang. Penurunan TPH cair terbesar terjadi pada kombinasi tiga isolat, yaitu sebesar 1.68%(b/b) di hari ke-21.

Persentase degradasi terbesar terjadi pada kombinasi tiga isolat, yaitu sebesar 81.56%. Nilai ini lebih tinggi jika dibandingkan isolat tunggal dan kombinasi dua isolat (Gambar 7c). Nilai persentase degradasi kombinasi isolat dengan penambahan LAS lebih tinggi dibandingkan tanpa penambahan LAS. Nilai persentase degradasi MY7+MY12, MY7+MYFlr, MY12+MYFlr, dan MY7+MY12+MYFlr masing-masing sebesar 10.16%, 34.15%, 8.09%, dan 36.74% (Lestari 2010). Nilai persentase degradasi kombinasi isolat dengan penambahan LAS masing-masing sebesar 60.13%, 57.00%, 62.47%, dan 81.56%.

G. Total Plate Count (TPC)

TPC merupakan cara perhitungan jumlah koloni yang terdapat dalam suatu produk yang tumbuh pada media agar pada suhu dan waktu yang ditetapkan (SNI 2008). Perhitungan dapat dilakukan dengan hitung cawan tanpa menggunakan mikroskop.



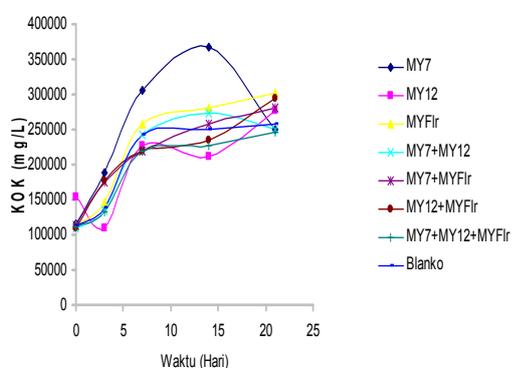
Gambar 8 Jumlah koloni isolat dengan penambahan LAS

Jumlah koloni berkaitan dengan persentase degradasi. Secara umum semakin besar jumlah koloni mikroba maka semakin tinggi persentasenya. Jumlah koloni

mikroba yang dapat mendegradasi senyawa hidrokarbon adalah 10^6 - 10^8 cfu/ml. Jumlah koloni kombinasi tiga isolat paling tinggi di antara yang lain, yaitu 7×10^{10} cfu/mL di hari ke-14. Hal ini tentunya sebanding dengan meningkatnya persentase degradasi, yaitu sebesar 54.62%.

H. Kebutuhan Oksigen Kimia (KOK)

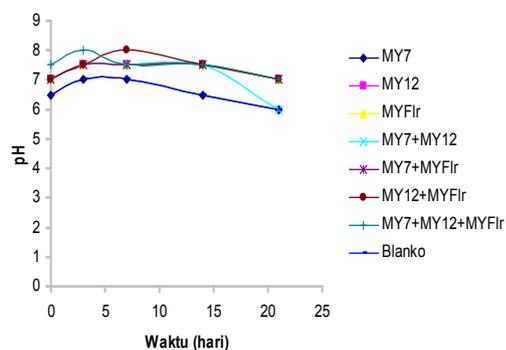
Pengukuran KOK pada penelitian ini dilakukan dengan metode reflus tertutup yang diikuti dengan metode titrimetri. Nilai KOK yang semakin meningkat menunjukkan bahwa limbah minyak berat tersebut banyak mengandung senyawa organik berupa hidrokarbon, sulfur, dan nitrogen. Oleh karena itu jumlah oksigen yang dibutuhkan untuk menguraikan senyawa tersebut menjadi senyawa yang lebih sederhana semakin tinggi. Gambar 9 menunjukkan penambahan LAS akan menambah senyawa organik yang harus dioksidasi, sebab LAS sendiri adalah senyawa organik.



Gambar 9 Nilai KOK dengan penambahan LAS

Kombinasi tiga isolat memiliki nilai KOK yang paling rendah, yaitu sebesar 246456 mg/L di hari ke-21. Nilai KOK ini sebanding dengan nilai TPH cair kombinasi tiga isolat yang lebih rendah dari isolat tunggal dan kombinasi dua isolat. Hal ini terjadi karena senyawa hidrokarbon yang ada di dalam cairan didegradasi oleh isolat bakteri, terutama kombinasi tiga isolat. Semakin besar jumlah hidrokarbon yang didegradasi maka semakin rendah kandungan senyawa organiknya, yang digambarkan oleh nilai KOK.

I. pH



Gambar 10 Nilai pH isolat dengan penambahan LAS

Biodegradasi minyak bumi dipengaruhi oleh nilai pH yang terjadi pada lingkungan tersebut (Zhu *et al.* 2001). Nilai pH berhubungan dengan jumlah asam yang terkandung dalam tanah. Mayoritas mikroorganisme tanah akan tumbuh dengan subur pada pH antara 6 sampai 8.

Isolat menghasilkan basa dan asam organik pada proses metabolisme sehingga mempengaruhi nilai pH-nya. Nilai pH kombinasi tiga isolat konstan diatas 6 sehingga kemampuan degradasinya optimum. Hal ini dapat dilihat dari penurunan TPH padat, TPH cair, serta kenaikan persentase degradasinya (Gambar 7).

IV. Kesimpulan

MY7, MY12, dan MYFlr ditentukan sebagai 3 isolat terbaik karena memiliki nilai persentase degradasi yang paling tinggi, yaitu 32.26%, 58.25%, dan 40.74%. Penambahan LAS ternyata mampu meningkatkan kelarutan minyak bumi di dalam air sehingga terjadi penurunan nilai TPH padat, kenaikan TPH cair, serta kenaikan nilai KOK. Nilai TPH padat pada campuran tiga isolat pada hari ke-21 sebesar 2.33%(b/b), nilai TPH cair sebesar 1.68%(b/b), dan nilai KOK sebesar 246456 mg/L. Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kombinasi tiga isolat lebih mampu mendegradasi senyawa hidrokarbon dibandingkan isolat tunggalnya.

Referensi

1. Al-Tahhan RA, Sandrin TR, Bodour AA, Maier RM. 2000. Rhamnolipid-Induced Removal of Lipopolysaccharide from *Pseudomonas aeruginosa*: Effect on Cell Surface Properties and Interaction with Hydrophobic Substrates. *Applied and Environmental Microbiology* 66(8):3262-3268.
2. Banat M. I. 1995. Biosurfactants Production and Possible Uses in Microbial Enhanced Oil Recovery And Oil Pollution Remediation : A Review. *Journal of bioresource Technology. Elsevier Science Ltd* 51:1-12.
3. Clesceri LC, AE Greenberg, AD Eaton. 2005. *Standard Method for Examination of Water and Wastewater 21th*. 5220.C-Closed Reflux, Titrimetri Method. APHA, AWWA, WEF.
4. Hadi SN. 2003. Degradasi Minyak Bumi via "Tangan" Mikroorganisme. [terhubung berkala]. http://www.chemistry.org/artikel_kimia/kimia_materi/degradasi_minyak_bumi_via_tangan_mikroorganisme/ [Oktober 2009].
5. Hadioetomo RS. 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
6. Hikmatuloh YA. 2004. Pengembangan Kombinasi Bakteri dan Proses Biodegradasi Minyak Diesel. [skripsi]. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
7. Jamilah. 2005. Potensi Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi pada Tanah Terkontaminasi Minyak Bumi dengan Penambahan Surfaktan. [skripsi]. Bogor. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
8. Leahy JG, Colwell RR. 1990. *Microbial Degradation of Hydrocarbons in the Environment*. Departement of Microbiology, University of Maryland, College Park, Maryland. *Microbiological Reviews*.p. 305 – 315.

9. Nugroho A. 2006. Biodegradasi *Sludge* Minyak Bumi dalam Skala Mikrokosmos: Simulasi Sederhana sebagai Kajian Awal Bioremediasi *Land Treatment*. *Makara Teknologi* 10:82-89.
10. Nurhariyani T, Ni'matuzahroh, Surtiningsih T. 2006. Biodegradasi Minyak oleh *Rhodotorula* dan *Candida* Hasil Isolasi dari Pelabuhan Tanjung Perak Surabaya. *Berk.Panel.Hayati* 12:27-31.
11. Pelczar MJ, Chan ECS. 2007. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Volume ke-1. Hadioetomo RS, Imas T, Tjirosomo SS, Angka SL, penerjemah; Jakarta: UI Pr. Terjemahan dari: *Elements of Microbiology*.
12. Poloroso A. 2005. Potensi Alkil Linear Sulfonat dalam Mempengaruhi Kinerja Mikrob Pendegradasi Minyak Bumi. [skripsi]. Bogor. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
13. Rony. 2009. Pengaruh Surfaktan Anionik dan Pengadukan Terhadap Kelarutan Limbah Minyak Bumi dalam Air. [skripsi]. Bogor. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
14. [SNI] Standar Nasional Indonesia. 2008. *Metode Pengujian Cemaran Mikroba dalam Daging, Telur, dan Susu serta Hasil Olahannya*. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.
15. Suardana P *et al.* 2002. Pengaruh Surfaktan Linier Alkilbenzena Sulfonat dalam Mempercepat Bioremediasi Limbah Minyak Bumi. Simposium Nasional-IATMI, Jakarta.
16. Udiharto M. 1996. Bioremediasi Minyak Bumi. *Prosiding Pelatihan dan Lokakarya “Peranan Bioremediasi dalam Pengelolaan Lingkungan”*, Cibinong 24-28 Juni 1996. LIPI-BPPT-HSF.
17. [US EPA] United States Environmental Protection Agency. 1998. Method 1664, Revision A: n-Hexane Extractable Material (HEM; Oil and Grease) and Silica Gel Treated n-Hexane Extractable Material (SGT-HEM; Non-polar Material) by Extraction and Gravimetry. Washington DC: U.S.EPA.
18. [US EPA] United States Environmental Protection Agency. 1999. Method 9071B, n-Hexane Extractable Material (HEM) for Sludge, Sediment, and, Solid Samples. Washington DC: U.S.EPA.
19. Yani M, Akbar Y. 2004. Proses Biodegradasi Minyak Diesel oleh Campuran Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon. *J. Tek. Ind. Pert.* 19:40-44.
20. Zacky M. 2005. Produksi dan Karakterisasi Inokulum serta Aplikasinya dalam Mendegradasi Senyawa Hidrokarbon Minyak Bumi. [skripsi]. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
21. Zhu, X., A. D. Venosa, M. T. Suidan dan K. Lee. 2001. *Guidelines For The Bioremediation of Marine Shorelines and Freshwater Wetlands*. U.S. Evironmental Protection Agency, Cincinnati

Pertanyaan dan Jawaban waktu Presentasi

Judul Makalah	:	Biodegradasi Limbah Minyak Berat Menggunakan Isolat Tunggal dan Campuran dengan Penambahan Alkilbenzena Sulfonat Linear
No Kode	:	-
Penulis	:	Charlena, Zainal Alim Mas'ud, Mohamad Yani, Ahmad Sjahriza, Joko G. Tarigan
Pertanyaan	:	<ol style="list-style-type: none"> 1. Dasar pemilihan LAS, mohon dijelaskan lebih rinci kenapa LAS mampu meningkatkan kinerja mikroorganisme pendegradasi hidrkarbon! 2. Apakah ada senyawa lain selain LAS/NDS yang dapat digunakan untuk meningkatkan kinerja mikroorganisme pendegradasi hidrkarbon?
Jawaban	:	<ol style="list-style-type: none"> 1. LAS mampu meningkatkan kinerja mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon karena LAS dapat meningkatkan kelarutan bagian hidrofobik dari hidrokarbon minyak bumi sehingga dapat menyediakan permukaan senyawa hidrokarbon yang lebih luas melalui pembentukan mikroemulsi dan ketersediaan biologis untuk keperluan metabolisme mikroorganisme. Dengan adanya peningkatan kontak antara minyak dan air, maka akan mempermudah masuknya suplai oksigen dan nutrisi yang dibutuhkan mikroorganisme pada permukaan senyawa hidrokarbon tersebut. Kondisi ini sangat membantu mikroorganisme untuk lebih cepat dapat mendegradasikan limbah minyak bumi yang mengandung senyawa hidrokarbon. 2. Selain surfaktan LAS dan NDS yang tergolong surfaktan anionik, surfaktan Tween 80 dan Brij 35 yang tergolong surfaktan nonionik juga dapat digunakan untuk mempercepat proses biodegradasi senyawa hidrokarbon dalam limbah minyak bumi.