

OPTIMASI KONSENTRASI INOKULUM, RASIO C:N:P DAN pH PADA PROSES BIOREMEDIASI LIMBAH PENGILANGAN MINYAK BUMI MENGGUNAKAN KULTUR CAMPURAN

Syukria Ikhsan Zam

Jurusan Pertanian Fakultas Pertanian dan Peternakan UIN Sultan Syarif Kasim Riau

ABSTRAK

The purposes of this research were to obtain the best inoculum concentration, C:N:P ratio, and pH, and also to identify the ability of mixed culture of hydrocarbonoclastic bacteria in oil waste degradation. The isolats were used are Acinetobacter baumannii, Alcaligenes eutrophus, Bacillus sp1., Methylococcus capsulatus, Bacillus sp2., Morococcus sp., Pseudomonas diminuta, Xanthomonas albilineans, Bacillus cereus and Flavobacterium branchiophiia. Variation of inoculum concentrations were 10%, 15%, and 20% (v/v), C:N:P ratios were 100:10:1, 100:10:0,5, 100:5:1, and 100:5:0,5, and pH were 6,5, 7,0, 7,5. Observed parameters in optimization were Total Plate Count (TPC) the culture every 24 hours, Total Petroleum Hydrocarbon (TPH) and Chemical Oxygen Demand (COD) examined at the end of the bioremediation period. Best optimization result then analyzed with GC/MS. Optimization result indicated the best inoculum concentration was 10% with TPH degradation 61,79% and COD slope 61,75%. It is assumed that the low value of TPH degradation and COD slope at 15% and 20% inoculum concentration were caused by competition inside the bacterial population at that high inoculum concentration. The competition result in low growth and degradation. C:N:P ratio was 100:5:1 with TPH degradation 66,55% and COD slope 85,18%. It is assumed that the C:N:P ratio is equal, so it can enhance the bioremediation procces. The best pH was 7,5 with TPH degradation 73,24% and COD slope 86,28%. The process at the optimum conditions using inoculum as a mixed culture enhanced the bioremediation process with the result as follows, TPH degradation 93,06%, COD 90,73% for treatment. The chromatogram indicated that total hydrocarbon compound from nC₉ – nC₃₂ have been degraded by 43,413% – 63,117%. A good result of bioremediation was obtained from mixed culture inoculum at 10% concentration, C:N:P ratio of 100:5:1, and pH 7,5.

Keywords: Bioremediation, hydrocarbonoclastic bacteria, inoculum concentration, C:N:P ratio, pH

PENDAHULUAN

Peningkatan kebutuhan bahan bakar minyak, mengakibatkan peningkatan eksplorasi dan pengolahannya. Eksplorasi dan pengolahan minyak bumi selain memberikan keuntungan juga memberikan dampak yang buruk bagi lingkungan, yaitu berupa limbah (residu). Limbah hasil pengolahan minyak bumi memiliki komposisi berupa aspal, lilin, logam berat, lumpur bercampur minyak sisa pengilangan (*oil sludge*) dan hidrokarbon (Anonimus, 1994). Pada umumnya limbah minyak bumi belum dikelola dan dimanfaatkan secara optimum. Banyak limbah yang langsung dibuang ke lingkungan, sehingga akan mengakibatkan terjadinya pencemaran lingkungan.

Pada umumnya limbah minyak bumi diolah secara fisika dengan penyaringan, penyerapan, pembakaran atau secara kimia dengan menggunakan pengemulsi. Cara-cara ini memang dapat menghilangkan limbah minyak bumi dengan cepat, akan tetapi biayanya mahal dan tidak ramah lingkungan. Sebagai contoh, pembakaran dapat

menghancurkan hidrokarbon dengan cepat, tetapi pada saat yang bersamaan menyebabkan polusi udara dan meninggalkan sisa pembakaran yang memerlukan penanganan yang lebih lanjut. Sementara itu penggunaan bahan kimia sintesis selain lebih mahal juga dapat menimbulkan resiko pencemaran baru, sehingga diperlukan suatu cara pengolahan limbah minyak bumi yang lebih ekonomis dan lebih ramah lingkungan (Clark, 1986).

Salah satu cara untuk pengelolaan dan pemanfaatan limbah dilakukan dengan menggunakan agen biologi yang disebut bioremediasi. Bioremediasi merupakan suatu proses pemulihan (remediasi) lahan yang tercemar limbah organik maupun limbah anorganik dengan memanfaatkan organisme. Pengelolaan dengan menggunakan organisme merupakan alternatif penanggulangan limbah minyak bumi yang murah, efektif, ramah lingkungan dan menyebabkan terjadinya degradasi limbah yang menghasilkan senyawa akhir yang stabil dan tidak beracun, namun metode ini membutuhkan waktu yang lebih lama

dibandingkan dengan cara fisika atau kimia (Atlas dan Bartha, 1992).

Organisme yang telah diketahui memiliki kemampuan mendegradasi hidrokarbon terutama adalah mikroorganisme seperti jamur, ragi, dan bakteri. Kemampuan bakteri dalam memecahkan rantai hidrokarbon diawali dengan pelarutan hidrokarbon dalam fase cair oleh surfaktan yang dihasilkan mikroorganisme tersebut (Rosenberg dkk., 1992). Pertumbuhan mikroorganisme dalam hidrokarbon sering diikuti dengan pengemulsian sumber karbon yang tidak larut dalam medium kultur karena adanya agen polimer ekstraseluler yang dibentuk selama fermentasi hidrokarbon (Zajic dkk., 1977).

Bioremediasi minyak bumi dapat dilakukan melalui dua pendekatan utama yaitu *seeding* dan bioaugmentasi. *Seeding* adalah inokulasi mikroorganisme ke lokasi tercemar minyak bumi. Mikroorganisme yang diinokulasikan tersebut dapat diperoleh dari luar (*nonindigenous*) atau dengan memanfaatkan mikroorganisme lokal yang ada di lokasi tercemar (*indigenous*). Bioaugmentasi adalah modifikasi lingkungan untuk meningkatkan aktivitas metabolisme mikroorganisme melalui penambahan nutrisi terutama yang mengandung nitrogen dan fosfor, peningkatan jumlah oksigen dan kelembaban, penambahan surfaktan, dan penambahan kosubstrat sebagai penunjang pertumbuhan mikroorganisme (Leahy dan Colwell, 1990; Atlas, 1993).

Biodegradasi senyawa hidrokarbon yang terdapat pada limbah pengilangan minyak bumi dipengaruhi oleh faktor fisika, kimia dan biologi. Faktor fisika-kimia yang berpengaruh terhadap biodegradasi hidrokarbon antara lain komposisi dan struktur kimia hidrokarbon, konsentrasi hidrokarbon, suhu, oksigen, salinitas, pH, nutrisi, cahaya dan tekanan osmotik. Umumnya kecepatan degradasi minyak bumi oleh bakteri aerob berlangsung optimum pada suhu berkisar antara 15 – 30°C (Englert, 1993). Suhu yang lebih tinggi dapat meningkatkan kecepatan degradasi hidrokarbon secara maksimum, biasanya pada kisaran 30 – 40°C. Suhu yang melebihi titik ini dapat meningkatkan toksisitas membran mikroorganisme (Bossert dan Bartha, 1984). Faktor biologis meliputi mikroorganisme yang ada, karakter, jumlah sel, serta enzim yang dimiliki oleh organisme tersebut (Atlas, 1981; Atlas dan Bartha, 1992; Leahy dan Colwell, 1990; Udiharto, 1992). Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh konsentrasi inokulum, rasio C:N:P, dan pH terbaik, serta mengetahui kemampuan kultur campuran bakteri dalam mendegradasi limbah pengilangan minyak bumi.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan penelitian adalah isolat bakteri yang diisolasi dari limbah minyak bumi yang berasal dari tempat pembuangan limbah Kilang Minyak UP II

Pertamina Sungai Pakning. Limbah yang dikirim merupakan limbah cair dengan warna kehitaman, berbau tajam, dan mudah terbakar. Medium pertumbuhan bakteri menggunakan “Stone Mineral Salt Solution” (SMSS), dibuat dengan cara melarutkan lima g CaCO₃; 2,5 g NH₄NO₃; satu g Na₂HPO₄·7H₂O; 0,5 g KH₂PO₄; 0,5 g MgSO₄·7H₂O; dan 0,2 g MnCl₂·7H₂O ke dalam satu liter akuades, pH diatur tetap 6,5 (Sharpley, 1966).

Bahan kimia yang diperlukan dalam pengukuran COD adalah K₂Cr₂O₇ 0,25 N, H₂SO₄ pekat, kristal HgSO₄, FAS [Fe(NH₄)₂(SO₄)₂], dan indikator Ferroin. Pengukuran menggunakan metode *Dichromate Reflux Technique Standar* (Anonimus, 2005).

Isolat bakteri yang digunakan adalah *Acinetobacter baumannii*, *Alcaligenes eutrophus*, *Bacillus* sp1., *Methylococcus capsulatus*, *Bacillus* sp2., *Morococcus* sp., *Pseudomonas diminuta*, *Xanthomonas albilineans*, *Bacillus cereus* dan *Flavobacterium branchiophiia*. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah labu Erlenmeyer, cawan Petri, tabung reaksi, mikropipet, pipet ukur, labu pemisah, gelas piala dan *shaker incubation*.

Tata Kerja

Sterilisasi Alat dan Bahan

Bahan dan alat tahan panas yang digunakan dalam penelitian ini disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 lbs selama 15 menit. Peralatan yang tidak tahan panas disterilisasi dengan menggunakan alkohol 90%.

Optimasi Konsentrasi Inokulum

Optimasi konsentrasi inokulum dilakukan dengan cara menambahkan 10%, 15%, dan 20% (v/v) kultur campuran (1:1:1:1:1:1:1:1) setiap tahapan isolasi ke dalam masing-masing labu Erlenmeyer yang berisi SMSSe yang ditambahkan 50% (v/v) limbah minyak bumi dengan jumlah sel 10⁶ sel/mL (Mulvey, 2002). Kemudian diinkubasikan pada suhu 28°C selama 7 x 24 jam dengan agitasi 120 rpm. Setiap 24 jam sekali dilakukan enumerasi untuk pembuatan pola pertumbuhan bakteri dengan metode cawan tuang. Pada hari terakhir dilakukan pengukuran tingkat degradasi limbah minyak bumi dan penurunan COD. Perlakuan yang memberikan hasil terbaik dilakukan GC/MS terhadap minyak sisa degradasi.

Optimasi Rasio C:N:P

Perlakuan dilakukan dengan menambahkan konsentrasi terbaik dari optimasi konsentrasi inokulum tiap tahapan isolasi ke dalam masing-masing labu Erlenmeyer yang berisi SMSSe yang ditambahkan 50% (v/v) limbah minyak bumi (sumber C), amonium nitrat (sumber N), dan pupuk superfosfat (sumber P) diinkubasi pada suhu 28°C

dengan agitasi 120 rpm selama 7 x 24 jam. Rasio C:N:P dibuat dalam empat variasi, yaitu 100:10:1 (100 mL limbah minyak bumi, 3,52 g NH₄NO₃, 0,34 g pupuk SP36), 100:10:0,5, (100 mL limbah minyak bumi, 3,52 g NH₄NO₃, 0,17 g pupuk SP36), 100:5:1 (100 mL limbah minyak bumi, 1,76 g NH₄NO₃, 0,34 g pupuk SP36), dan 100:5:0,5 (100 mL limbah minyak bumi, 1,76 g NH₄NO₃, 0,17 g pupuk SP36) (Cookson, 1995; Satitiningrum, 2005). Setiap 24 jam sekali dilakukan enumerasi untuk pembuatan pola pertumbuhan bakteri. Pada hari terakhir dilakukan pengukuran tingkat degradasi limbah minyak bumi dan penurunan COD. Perlakuan yang memberikan hasil terbaik dilakukan GC/MS terhadap minyak sisa degradasi.

Optimasi pH

Berdasarkan hasil optimasi konsentrasi inokulum, dan rasio C:N:P yang memberikan hasil perlakuan terbaik, kemudian dilakukan optimasi pH. Optimasi pH dilakukan dengan penambahan NaOH untuk meningkatkan pH medium. pH ditingkatkan dari 6,5, 7,0, dan 7,5 (Mulvey, 2002; Pelczar dan Chan, 1995; Mateo, 2006). Kemudian diinkubasikan pada pada "rotary shaker incubation" dengan kecepatan pengocokan 120 rpm selama 7 x 24 jam. Setiap 24 jam sekali dilakukan enumerasi untuk pembuatan pola pertumbuhan bakteri. Pada hari terakhir dilakukan pengukuran tingkat degradasi limbah minyak bumi dan penurunan COD. Perlakuan yang memberikan hasil terbaik dilakukan GC/MS terhadap minyak sisa degradasi.

Tingkat degradasi

Pengukuran tingkat degradasi dilakukan dengan menggunakan metode Gravimetri. Metode ini dilakukan dengan mengekstraksi lima mL sampel dengan menggunakan benzene, pentana, dan dietileter dengan perbandingan 3:1:1 sebanyak lima mL. Minyak yang diperoleh lalu ditimbang untuk mengetahui jumlah minyak yang terkandung dalam sampel. Tingkat degradasi diukur dengan rumus sebagai berikut (Pikoli, 2000) :

$$\% \text{ deg radasi} = \frac{A - B}{A}$$

Keterangan :

- A = Total petroleum hydrocarbon (TPH) awal
- B = Total petroleum hydrocarbon (TPH) akhir

TPC (Total Plate Count)

Analisis TPC bertujuan untuk mengetahui pola pertumbuhan bakteri selama proses bioremediasi berlangsung. TPC dilakukan dengan metode cawan tuang yang mengacu kepada Cappuccino dan Sherman (1987).

COD (Chemical Oxygen Demand)

Pengukuran COD dilakukan untuk mengetahui konsentrasi total bahan kimia yang terdapat pada limbah sebelum dan sesudah bioremediasi. Pengukuran dilakukan dengan metode *Dichromate Reflux Technique Standar*. Metode ini dilakukan dengan cara mengambil 25 mL medium sampel dan 25 mL akuades sebagai blanko ke dalam labu Erlenmeyer 500 mL. Ditambahkan satu g HgSO₄, lima mL H₂SO₄ pekat, dan diaduk sampai HgSO₄ larut. Perlahan-lahan ditambahkan 12,5 mL K₂Cr₂O₇ 0,25 kemudian diaduk hingga homogen. Selama pengadukan ditambahkan 35 mL H₂SO₄ pekat, kemudian direfraksi selama 2 jam. Hasil refraksi didinginkan, kemudian ditambahkan akuades hingga volume 175 mL. Kemudian ditambahkan 2 – 3 tetes indikator Ferroin, selanjutnya dititrasi dengan FAS [Fe(NH₄)₂(SO₄)₂] sampai terjadi perubahan warna menjadi coklat kemerahan. Kandungan COD ditentukan dengan perhitungan berikut (Anonimus, 2005) :

$$COD \text{ (mg/l)} = \frac{(a - b) \cdot (N) \cdot 8000}{v}$$

Keterangan :

- a = mL Fe(NH₄)₂(SO₄)₂ yang digunakan untuk blanko
- b = mL Fe(NH₄)₂(SO₄)₂ yang digunakan untuk sampel
- N = normalitas Fe(NH₄)₂(SO₄)₂
- v = volume sampel

Kromatografi Gas (GC/MS)

Kromatografi gas dilakukan hanya untuk perlakuan terbaik dari hasil optimasi. Tujuan analisis dengan GC/MS adalah untuk mengetahui komposisi dan jenis senyawa yang terkandung di dalam sampel sebelum dan sesudah bioremediasi. Alat yang digunakan adalah GC jenis HP-5890 dengan detektor FID dan suhu 300°C, kolom GC adalah kapiler kaca (panjang 30 m dan diameter 0,25 mm) dengan tekanan 100 kPa dan aliran kolom 1,6 mL/menit, sedangkan gas pembawa sampel yang akan dianalisis yaitu helium.

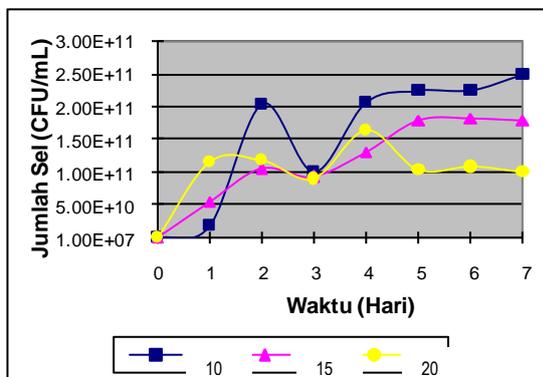
HASIL DAN PEMBAHASAN

Konsentrasi Inokulum

Optimasi konsentrasi inokulum yang digunakan adalah 10%, 15%, dan 20% (v/v). Peningkatan konsentrasi inokulum dilakukan untuk mengetahui apakah peningkatan tersebut dapat mempercepat dan meningkatkan degradasi limbah pengilangan minyak bumi. Hasilnya dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2, serta Lampiran 1 dan 2.

Berdasarkan hasil optimasi konsentrasi inokulum dapat dilihat bahwa perlakuan yang memberikan hasil perlakuan terbaik secara berturut-turut adalah konsentrasi inokulum 10% dengan tingkat degradasi

TPH 61,79% dan penurunan COD 61,74% serta laju pertumbuhan 0,0391 jam⁻¹, konsentrasi inokulum 15% tingkat degradasi TPH 51,26% dan penurunan COD 60,66% serta laju pertumbuhan 0,0377 jam⁻¹, dan konsentrasi inokulum 20% tingkat degradasi TPH 48,75% dan penurunan COD 59,59% serta laju pertumbuhan 0,0364 jam⁻¹ (Gambar IV.13 dan Lampiran 4). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwasanya peningkatan konsentrasi inokulum menjadi dua kali lipat, bahkan tiga kali lipat tidak meningkatkan proses biodegradasi limbah pengilangan minyak bumi. Hasil penelitian yang dilakukan Satitiningrum (2005) menunjukkan tidak terdapatnya korelasi antara pemberian inokulum dalam jumlah yang banyak terhadap tingkat degradasi dan pertumbuhan mikroorganisme. Pemberian inokulum dengan konsentrasi lebih besar dari 10% mengakibatkan pertumbuhan dan penurunan TPH yang kurang baik (Gambar 1 dan 2). Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Astuti (2003) diketahui bahwa konsentrasi inokulum terbaik digunakan dalam degradasi minyak bumi adalah 10%. Pemberian konsentrasi dibawah ataupun lebih dari 10% akan memberikan hasil pertumbuhan dan degradasi yang kurang baik. Mulvey (2002) menyatakan pemberian konsentrasi inokulum melebihi 15% akan mengakibatkan terganggunya pertumbuhan dan biodegradasi minyak bumi.

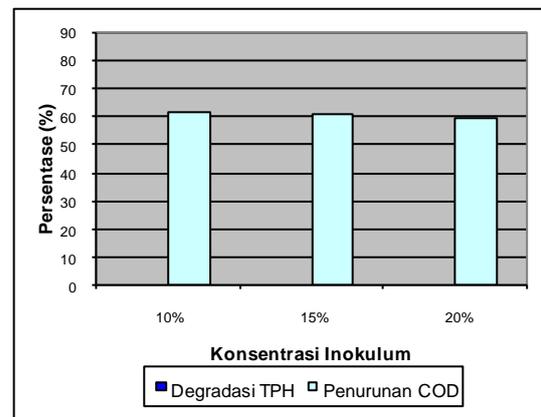


Gambar 1 Kurva pola pertumbuhan kultur campuran dalam medium SMSSe + 50% limbah minyak bumi pada optimasi konsentrasi inokulum. Kondisi lingkungan : suhu 28°C, pH awal medium 6,5, dengan agitasi 120 rpm.

Pemberian konsentrasi inokulum 10% dapat dinyatakan sebagai konsentrasi inokulum yang tepat untuk proses bioremediasi limbah pengilangan minyak bumi ini. Konsentrasi tersebut mendukung untuk pertumbuhan bakteri jika dibandingkan dengan konsentrasi inokulum 15% dan 20%, sehingga pertumbuhan bakteri menjadi lebih baik. Menurut Doelle (1994) konsentrasi inokulum yang mencukupi merupakan salah satu syarat supaya proses fermentasi dapat berlangsung dengan optimum. Mishra dkk. (2001) menambahkan

kesesuaian antara rasio inokulum dan komposisi substrat dapat mempengaruhi proses degradasi minyak bumi.

Kurang baiknya pertumbuhan dan degradasi limbah pengilangan minyak bumi pada konsentrasi inokulum 15% dan 20% diakibatkan konsentrasi tersebut terlalu banyak sehingga medium kurang memadai untuk pertumbuhan bakteri tersebut. Hal ini mengakibatkan terjadinya kompetisi antar bakteri, sehingga pertumbuhan dan proses degradasi menjadi rendah. Astuti (2003) menyatakan persaingan dalam penggunaan substrat mengakibatkan pertumbuhan kultur menjadi kurang baik, karena penambahan jumlah sel atau biomassa menjadi rendah.



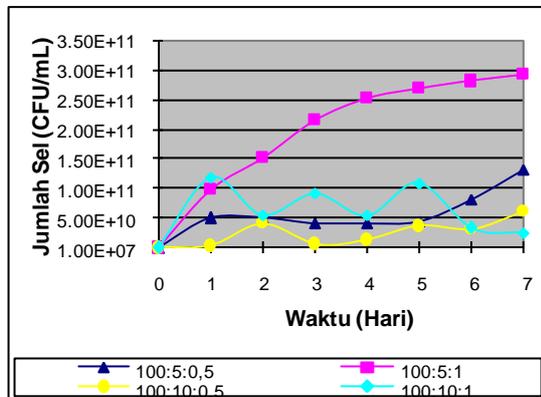
Gambar 2 Tingkat degradasi TPH dan penurunan COD dari optimasi konsentrasi inokulum.

Pada optimasi ini, penurunan COD pada konsentrasi inokulum 15% dan 20% tidak jauh berbeda dengan konsentrasi inokulum 10%. Hal ini dapat diakibatkan terjadinya kompetisi antar populasi pada perlakuan tersebut, sehingga bakteri-bakteri beradaptasi menggunakan substrat selain hidrokarbon, seperti asam lemak dan senyawa lainnya yang terdapat dalam limbah minyak tersebut. Penggunaan senyawa-senyawa lain ini mengakibatkan penurunan COD yang cukup tinggi, sedangkan degradasi hidrokarbon menjadi rendah. Menurut Slater (1981, dalam Astuti, 2003) jika terdapat lebih dari satu pengguna substrat dalam satu kultur, maka kemungkinan mikroorganisme untuk termutasi akan lebih besar. Akibat dari mutasi ini mikroorganisme akan memiliki kemampuan untuk memanfaatkan substrat lainnya untuk pertumbuhan (Black, 1999).

Rasio C:N:P

Salah satu faktor yang mempengaruhi proses biodegradasi adalah rasio C:N:P. Menurut Cookson (1995) pada umumnya rasio C:N:P yang baik untuk proses biodegradasi adalah 100:10:1. Berdasarkan hal tersebut optimasi rasio C:N:P dilakukan sebanyak empat variasi perlakuan, yaitu 100:10:1, 100:10:0,5, 100:5:1 dan 100:5:0,5. Parameter yang

digunakan untuk menentukan perlakuan yang memberikan hasil terbaik adalah TPC, tingkat degradasi TPH, dan penurunan COD, serta laju pertumbuhan kultur campuran bakteri. Hasil penelitian dapat dilihat pada Gambar 3 dan 4, serta Lampiran 3 dan 4.

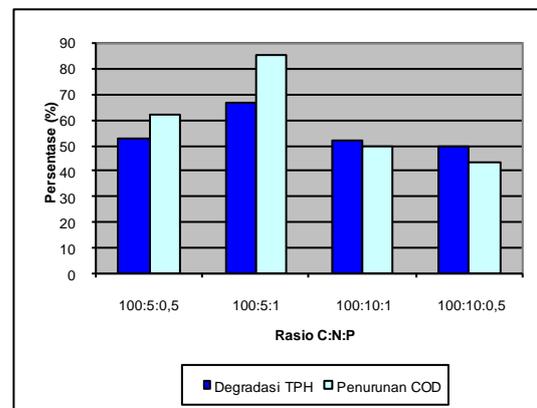


Gambar 3 Kurva pola pertumbuhan kultur campuran dalam medium SMSSe + 50% limbah minyak bumi pada optimasi rasio C:N:P. Kondisi lingkungan : suhu 28°C, pH awal medium 6,5, dengan agitasi 120 rpm.

Optimasi rasio C:N:P yang memberikan hasil terbaik secara berturut-turut adalah rasio 100:5:1 dengan tingkat degradasi TPH 66,55% dan penurunan COD 85,18% serta laju pertumbuhan 0,0457 jam⁻¹, rasio 100:5:0,5 dengan tingkat degradasi TPH 52,68% dan penurunan COD 62,17% serta laju pertumbuhan 0,0359 jam⁻¹, rasio 100:10:1 dengan tingkat degradasi TPH 51,70% dan penurunan COD 50% serta laju pertumbuhan 0,0387 jam⁻¹, dan terakhir rasio 100:10:0,5 dengan tingkat degradasi TPH 49,46% dan penurunan COD 43,42% serta laju pertumbuhan 0,0172 jam⁻¹ (Gambar 3 dan Lampiran 3). Terlihat bahwa rasio C:N:P=100:5:1 memberikan pertumbuhan yang baik sehingga proses biodegradasi berlangsung optimum. Hal ini menunjukkan bahwa rasio tersebut menyediakan sumber nutrisi yang sesuai dengan kebutuhan bakteri hidrokarbonoklastik. Kesesuaian antara rasio C:N:P sangat berpengaruh terhadap metabolisme bakteri. Leahy dan Colwell (1990) menyatakan ketersediaan nutrisi terutama nitrogen (N) dan fosfat (P) dalam perbandingan yang sesuai merupakan salah satu faktor yang dapat meningkatkan degradasi minyak bumi. Menurut Lin (1996) pemberian N dan P dapat meningkatkan respirasi sel bakteri, artinya terjadi peningkatan jumlah energi yang dihasilkan sehingga meningkatkan degradasi hidrokarbon dan meningkatkan biodegradasi TPH. Afifi (2004) menambahkan perbandingan C:N:P merupakan salah satu faktor pembatas dalam proses bioremediasi. Perbandingan rasio tersebut sangat tergantung dari karakteristik limbah yang akan diremediasi, sehingga perbandingan yang paling

sesuai akan memberikan hasil bioremediasi yang optimum.

Hasil penelitian menunjukkan perbandingan antara C:N=100:5 memberikan pertumbuhan dan hasil biodegradasi yang lebih baik jika dibandingkan dengan perbandingan C:N=100:10. Hal ini dapat diakibatkan oleh konsentrasi N yang tinggi menyebabkan terbentuknya nitrit yang merupakan senyawa toksik sehingga pertumbuhan komunitas mikroorganisme terganggu dan akibatnya proses biodegradasi menjadi rendah. Menurut Wrenn dkk. (1994) pertumbuhan dan degradasi hidrokarbon akan terjadi lebih baik dengan penambahan nitrogen, tetapi apabila terdapat dalam jumlah banyak, metabolisme nitrogen, terutama amonia akan menghasilkan asam yang dapat menurunkan pH sampai pada tingkatan yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme serta biodegradasi hidrokarbon. Wagner dkk. (1983, dalam Astuti, 2003) dan Doelle (1994) menyatakan senyawa nitrogen dalam jumlah banyak dapat menekan pertumbuhan mikroorganisme, sehingga sumber nutrisi yang mengandung nitrogen tidak dapat diberikan dalam jumlah banyak pada awal proses fermentasi karena dapat terakumulasi dalam bentuk nitrit yang bersifat toksik. Keberadaan senyawa toksik ini akan mengganggu proses bioremediasi, karena kehadiran senyawa ini akan mengganggu metabolisme sel mikroorganisme (Mulvey, 2002).



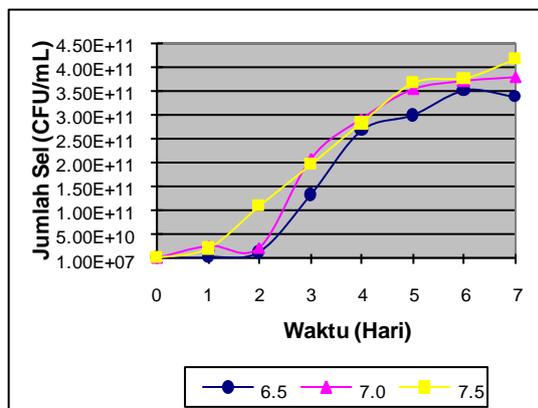
Gambar 4 Tingkat degradasi TPH dan penurunan COD dari optimasi rasio C:N:P.

Pada Gambar IV.15 terlihat bahwa rasio C:N:P 100:5:1 selain tingkat degradasi hidrokarbon yang tinggi, juga mampu menurunkan konsentrasi COD yang signifikan jika dibandingkan dengan rasio C:N:P lainnya. Hal ini diduga karena rasio C:N:P 100:5:1 merupakan konsentrasi yang seimbang, sehingga metabolisme sel menjadi lebih baik jika dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Selain itu sumber N dan P pada medium mencukupi untuk metabolisme sel, sehingga meningkatkan produksi energi dan kemampuan bakteri dalam mendegradasi limbah pengilangan minyak bumi. Menurut Van Hamme dkk. (2003) rasio C:N:P merupakan faktor

pembatas bioremediasi. Rasio C:N:P yang seimbang akan memberikan pertumbuhan dan tingkat degradasi senyawa-senyawa hidrokarbon, maupun senyawa-senyawa non hidrokarbon yang baik, sehingga konsentrasi COD menurun. Moat dan Foster (1995), dan Black (1999) menyatakan nitrogen (N) digunakan untuk sintesis protein, sedangkan sumber P akan digunakan dalam sintesis DNA, RNA, dan ATP. Protein, DNA, RNA, dan ATP merupakan unsur-unsur yang penting di dalam sel, jika unsur-unsur tersebut tersedia dalam jumlah yang optimum maka pertumbuhan dan kemampuan bakteri dalam mendegradasi limbah minyak bumi akan semakin meningkat

pH

Optimasi pH dilakukan sebanyak tiga variasi perlakuan, yaitu 6,5, 7,0, dan 7,5. Pemilihan variasi pH ini dilakukan karena pada umumnya kisaran pH optimum bagi pertumbuhan bakteri adalah 6,5 – 7,5. Berdasarkan studi pustaka pada umumnya proses bioremediasi berlangsung dengan baik pada kondisi pH berkisar 6,5 – 8 (Chair dkk., 2001). Hasil penelitian dapat dilihat pada Gambar 5 dan 6, serta Lampiran 5 dan 6. Parameter yang digunakan untuk menentukan perlakuan yang memberikan hasil terbaik adalah TPC, tingkat degradasi TPH, dan penurunan COD, serta laju pertumbuhan kultur campuran bakteri.

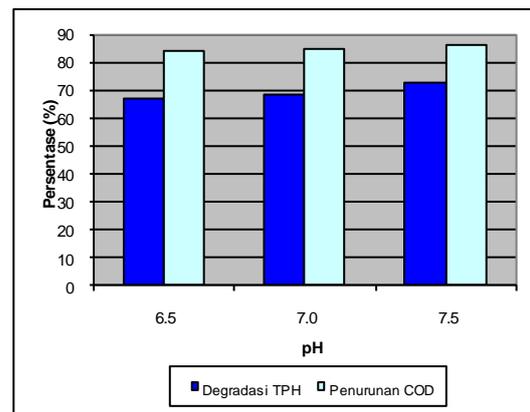


Gambar 5 Kurva pola pertumbuhan kultur campuran dalam medium SMSSe + 50% limbah minyak bumi pada optimasi pH. Kondisi lingkungan : suhu 28°C, dengan agitasi 120 rpm.

Perlakuan yang memberikan pertumbuhan dan tingkat degradasi terbaik adalah pH 7,5. Hal ini dapat dilihat dari tingkat degradasi TPH dan penurunan COD serta laju pertumbuhan yang tinggi jika dibandingkan dengan pH lainnya. pH tersebut mampu mendegradasi TPH 73,24% dan penurunan

COD 86,28% serta memiliki laju pertumbuhan 0,0446 jam⁻¹ (Gambar 5 dan Lampiran 5).

Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa pH tersebut paling sesuai jika dibandingkan dengan pH lainnya. Menurut Mulvey (2002) daerah dengan salinitas rendah rentang pH mendekati 8 dapat meningkatkan proses mineralisasi. pH yang sesuai akan mengakibatkan proses biodegradasi menjadi lebih cepat. Fungsi seluler, transpor membran, dan keseimbangan reaksi katalisis sangat dipengaruhi pH, sehingga mempengaruhi pertumbuhan dan tingkat degradasi senyawa-senyawa yang terdapat dalam limbah minyak bumi (Cookson,1995; Alexander, 1999).



Gambar 6 Tingkat degradasi TPH dan penurunan COD dari optimasi pH.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa secara keseluruhan, optimasi pH memberikan pertumbuhan dan tingkat degradasi serta penurunan COD yang baik. Hal ini dapat diakibatkan oleh pH tersebut masih termasuk rentang yang mendukung pertumbuhan dan proses biodegradasi. Menurut Mateo (2006) pH optimum untuk proses bioremediasi minyak bumi berkisar antara 6 sampai 8. Alexander (1999) menambahkan jika komponen lingkungan yang khas dapat dimetabolisme oleh organisme yang berbeda, maka rentang pH akan menjadi luas sehingga proses degradasi dapat terjadi.

Tingkat Degradasi Senyawa Hidrokarbon Terhadap Fitana dari Hasil Optimasi Terbaik

GC/MS dilakukan hanya untuk hasil optimasi yang memberikan hasil perlakuan terbaik. Berdasarkan perhitungan yang dilakukan terjadi peningkatan degradasi senyawa hidrokarbon untuk optimasi rasio C:N:P dan pH jika dibandingkan dengan optimasi konsentrasi inokulum. Hasil perhitungan dapat dilihat pada Tabel 1, sedangkan hasil GC/MS dapat dilihat pada Lampiran 7.

Hasil perhitungan (Tabel 1) menunjukkan konsentrasi inokulum, rasio C:N:P, dan pH sangat mempengaruhi biodegradasi limbah minyak bumi. Hal ini dapat dilihat dari peningkatan degradasi senyawa hidrokarbon dari $nC_9 - nC_{32}$ pada optimasi rasio C:N:P dan pH jika dibandingkan dengan optimasi konsentrasi inokulum. Peningkatan degradasi $nC_9 - nC_{32}$ untuk rasio C:N:P 100:5:1 berkisar antara 0,084% – 13,538%, sedangkan untuk pH berkisar antara 2,716% – 45,686%.

metabolisme sel, sehingga meningkatkan produksi energi dan kemampuan bakteri dalam mendegradasi limbah pengilangan minyak bumi. Sumber N akan digunakan untuk sintesis protein, sedangkan sumber P akan digunakan dalam sintesis DNA, RNA, dan ATP. Protein, DNA, RNA, dan ATP merupakan unsur-unsur yang penting di dalam sel, jika unsur-unsur tersebut tersedia dalam jumlah yang optimum maka pertumbuhan dan kemampuan bakteri dalam mendegradasi limbah minyak bumi akan semakin

Tabel 1 Tingkat degradasi senyawa hidrokarbon dari hasil optimasi terbaik setelah tujuh hari inkubasi.

Senyawa Hidrokarbon	Tingkat Degradasi (%)		
	Konsentrasi Inokulum (10%)	Rasio C:N:P (100:5:1)	pH (7,5)
nC_9	9,887	18,038	45,271
nC_{10}	14,704	28,242	51,527
nC_{11}	16,222	26,633	41,050
nC_{12}	17,626	28,524	34,893
nC_{13}	18,842	29,692	32,292
nC_{14}	20,669	28,623	31,824
nC_{15}	23,129	28,728	32,302
nC_{16}	21,084	32,472	39,823
nC_{17}	19,765	25,629	36,119
Pristana	-	-	-
nC_{18}	34,022	37,157	48,999
Fitana	-	-	-
nC_{19}	16,792	20,292	40,862
nC_{20}	22,507	24,902	46,465
nC_{21}	20,693	21,817	48,188
nC_{22}	23,374	21,829	53,478
nC_{23}	24,721	24,207	58,490
nC_{24}	18,702	19,537	58,050
nC_{25}	32,233	31,207	66,221
nC_{26}	14,640	26,351	58,803
nC_{27}	14,289	28,637	59,975
nC_{28}	50,331	47,241	78,161
nC_{29}	30,164	28,105	67,761
nC_{30}	37,816	34,636	72,196
nC_{31}	86,915	86,767	93,966
nC_{32}	88,056	88,378	94,934
Total	43,413	46,398	63,117

Terjadinya peningkatan degradasi senyawa hidrokarbon pada rasio C:N:P 100:5:1 dapat diakibatkan rasio ini memberikan pertumbuhan yang baik bagi kultur bakteri hidrokarbonoklastik. Selain itu sumber N dan P pada medium mencukupi untuk

meningkat (Moat dan Foster. 1995; Black, 1999; Van Hamme dkk., 2003). Rasio C:N:P yang mencukupi akan meningkatkan produksi biosurfaktan oleh bakteri yang mampu menghasilkan senyawa tersebut. Keberadaan senyawa tersebut

akan meningkatkan kelarutan limbah minyak di dalam air dan memperluas kontak bakteri dengan limbah, sehingga meningkatkan proses degradasi. Menurut Kinbal (1994) surfaktan dapat menyediakan permukaan kontak lebih luas antara hidrokarbon dan mikroorganisme melalui pembentukan misel, pelarutan dan emulsifikasi hidrokarbon.

Peningkatan tingkat degradasi senyawa hidrokarbon dari $nC_9 - nC_{32}$ pada pH 7,5 dapat diakibatkan pH tersebut meningkatkan aktivitas metabolisme sel dan kerja enzim yang berperan dalam degradasi limbah minyak bumi (monooksigenase dan dioksigenase), sehingga mendukung pertumbuhan kultur bakteri dan meningkatkan degradasi limbah minyak bumi. Menurut Bull dan Dalton (1985) kondisi lingkungan yang ideal terutama pH dan konsentrasi inokulum akan mendukung terciptanya suatu proses penyerapan substrat yang baik. Penyerapan substrat yang baik akan memperlancar proses metabolisme dalam sel, sehingga pertumbuhan sel akan berjalan lebih baik. Cookson (1995) dan Alexander (1999) menambahkan fungsi seluler, transpor membran, dan keseimbangan reaksi katalisis sangat dipengaruhi oleh pH, sehingga mempengaruhi pertumbuhan dan tingkat degradasi.

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah:

1. Optimasi yang memberikan hasil terbaik adalah : konsentrasi inokulum 10% dengan tingkat degradasi TPH 61,79% dan COD 61,75%, rasio C:N:P 100:5:1 dengan tingkat degradasi TPH 66,55% dan COD 85,18%, dan pH 7,5 dengan tingkat degradasi TPH 73,24% dan COD 86,28%.
2. Penggunaan kultur campuran bakteri hidrokarbonoklastik meningkatkan proses degradasi limbah minyak bumi, dengan tingkat degradasi TPH 93,06% dan penurunan COD 90,73%. Berdasarkan hasil GC/MS terjadi degradasi senyawa hidrokarbon dari $nC_9 - nC_{32}$ berkisar antara 76,36% – 99,02%.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifi, S. M. 2004. *Treatment of OBM Dril Cutting Soil by Elimination of Biodegradation Limiting Factors Using Bio-augmented Lanfarming*. The Annual International Conference on Contaminated Soils, Sediments, and Water, Massachusetts.
- Alexander, M. 1999. *Biodegradation and Bioremediation* 2nd edition. Academic Press, San Diego.
- Anonimus. 1994. *Limbah Cair Berbagai Industri di Indonesia : Sumber, Pengendalian dan Baku Mutu*. Project of the Ministry of State For the Environment RI, Jakarta.
- Anonimus. 2005. *Chemical Oxygen Demand (COD)*. Oasis Environmental Ltd., New York.
- Astuti, D. I. 2003. *Pemanfaatan Kultur Campuran Isolat Mikroba Lokal Untuk Degradasi Minyak Bumi dan Produksi Biosurfaktan*. Disertasi Doktor Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Atlas, R. M. 1981. Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbon : An Environmental Perspective. *Microbiol. Rev.* 45, 297 – 308.
- Atlas, R. M., and Bartha, R. 1992. *Microbial Ecology*. Benjamin Cummings Science, California.
- Atlas, R. M. 1993. Bioaugmentation to Enhance Microbial Bioremediation. In *Biotreatment of Industrial and Hazardous Waste*. Ed. Levin, M. A., and Bealt, M. A. Mc Graw – Hill, New York.
- Black, J. 1999. *Microbiology Principles and Explorations*. Prentice Hall Upper Saddle River, New Jersey.
- Bossert, I., and Bartha, R. 1984. The Fate of Petroleum Soil Ecosystems. *Petroleum Microbiology*. Mcmillan, New York.
- Bull, A.T., and Dalton, H. 1985. Comprehensive Biotechnology : Scientific Fundamental. *Comprehensive Biotechnology. The Principles, Applications and Regulation of Biotechnology In Industry, Agriculture and Medicine*. 1, 345 – 349.
- Cappucino, J. B., and Sherman, N. 1987. *Microbiology : A Laboratory Manual*. Addison Wesley Publ. Co., Massachusetts.
- Chair, J. T. N., Goldsmith, C. D., and Evanylo, G. 2001. *Enhanced Biodegradation in Landfills*. Thesis Master of Science Virginia Polytechnic and State University, Virginia.
- Clark, R. B. 1986. *Marine Pollution*. Clarendon Press, Oxford.
- Cookson, W. 1995. *Bioremediation Engineering*. Mc Graw – Hill, New York.
- Englert, C. J. 1993. Bioremediation of Petroleum Product in Soil. *Principles and Practices for Petroleum Contaminated Soil*. Lewis, Michigan.
- Kinbal, S. L. 1994. The Use of Surfactants to Enhance Pump and Treat Processes For In situ Soil Remediation. Remediation of Hazardous Waste Contaminated Soil. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Leahy, J. G., and Colwell, R. R. 1990. Microbial Degradation of Hydrocarbons In The Environment. *Microbiol. Rev.* 54, 305 – 315.
- Lin, Q. 1996. Phytoremediation : a Bioremediation in the Rhizophere. Effects and Management

- of Oil Spills in Marsh Ecosystems. McNeese State University, McNeese.
- Mateo, S. 2006. **Natural Attenuation of Petroleum Hydrocarbons.** www.smhealth.org
- Mishra, S. J., Jyot, R. C., Kuhad, and B, Lal. 2001. Evaluation of Inoculum Addition to Stimulate In Situ Bioremediation of Oily Sludge Contaminated Soil. *App. And Environ. Microbial.* 67 (4), 1675 – 1681
- Moat, A. G., and Foster, J. W. 1995. *Microbial Physiology* 3th edition. Jhon Wiley and Sons, Inc. Publication. New York.
- Mulvey, P. 2002. *Treatment, Recovery and Disposal Technology: Bioremediation Techniques for Petroleum Facilities.* Environmental and Earth Sciences Pty Ltd., North Sydney.
- Pelczar, M. J., and Chan, E. C. S. 1993. *Elements of Microbiology.* McGraw-Hill Book Company, New York.
- Pikoli, M. R. 2000. *Isolasi Bertahap Bakteri Termofilik Pendegradasi Minyak Bumi dari Sumur Bangko.* Tesis Magister Biologi Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Rosenberg, E., Legmann, R., Kushmaro, A., Taube, R., Adler, E., and Ron, E. Z. 1992. Petroleum Bioremediation – A Multiphase Problem. *Biodeg.* 3, 213 – 226
- Satitiningrum, Y. 2005. *Optimisasi Proses Bioremediasi Menggunakan Bakteri Hasil Isolasi Dari Sludge dan Oilly Cutting Secara Landfarming.* Tesis Magister Biologi Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Sharpley, J. M. 1966. *Elementary Petroleum Microbiology.* Gult. Publ. Co., Texas.
- Udiharto, M. 1992. *Aktivitas Mikroba Dalam Mendegradasi Crude Oil.* Diskusi Ilmiah VII. Hasil Penelitian Lemigas.
- Van Hamme, J. D., Singh, A., and Ward, O., P. 2003. Recent Advances in Petroleum Microbiology. *Microbiol. and Mol. Biol. Rev.* 67 (4), 503 – 549
- Wrenn, B. A., Haines, J. R., Venosa, A. D., Kadkhodayan, M., and Suidan, M. T. 1994. Effects of Nitrogen Source on Crude Oil Biodegradation. *J. Ind. Microbiol.* 13, 279 – 286.
- Zajic, J. E., Guignard, H., and Gerson, F. D. 1977. Emulsifying and Surface Active Agents From *Corynebacterium hydrocarbonoclatus*. *Biotechnology and Bioengineering.* 19, 1285 – 1301

Lampiran 1. Total plate count optimasi konsentrasi inokulum

Jumlah Sel (CFU/mL) Hari Ke-	Konsentrasi Inokulum		
	10%	15%	20%
0	$3,43 \times 10^7$	$4,80 \times 10^7$	$6,46 \times 10^7$
1	$1,77 \times 10^{10}$	$5,43 \times 10^{10}$	$1,16 \times 10^{11}$
2	$2,03 \times 10^{11}$	$1,05 \times 10^{11}$	$1,18 \times 10^{11}$
3	$1,00 \times 10^{11}$	$9,25 \times 10^{10}$	$9,01 \times 10^{10}$
4	$2,07 \times 10^{11}$	$1,31 \times 10^{11}$	$1,64 \times 10^{11}$
5	$2,24 \times 10^{11}$	$1,79 \times 10^{11}$	$1,04 \times 10^{11}$
6	$2,24 \times 10^{11}$	$1,82 \times 10^{11}$	$1,08 \times 10^{11}$
7	$2,48 \times 10^{11}$	$1,79 \times 10^{11}$	$9,95 \times 10^{10}$
Laju Pertumbuhan (sel/jam)	0,098	0,096	0,095

Lampiran 2. Penurunan TPH dan COD hasil optimasi konsentrasi inokulum

Konsentrasi Inokulum	TPH Awal (g/100mL)	TPH Akhir (g/100mL)	COD Awal (g/100mL)	COD Akhir (g/100mL)
10%	14,500	5,540	91,437	34,975
20%	14,500	7,066	91,437	35,960
30%	14,500	7,430	91,437	36,945

Lampiran 3. Total plate count pada optimasi rasio C:N:P

Jumlah Sel (CFU/mL) Hari Ke-	Rasio C:N:P			
	100:10:1	100:10:0,5	100:5:1	100:5:0,5
0	$3,84 \times 10^7$	$3,10 \times 10^7$	$4,19 \times 10^7$	$3,47 \times 10^7$
1	$1,19 \times 10^{11}$	$3,39 \times 10^9$	$9,81 \times 10^{10}$	$5,05 \times 10^{10}$
2	$5,46 \times 10^{10}$	$4,13 \times 10^{10}$	$1,52 \times 10^{11}$	$5,06 \times 10^{10}$
3	$9,26 \times 10^{10}$	$6,76 \times 10^9$	$2,16 \times 10^{11}$	$4,12 \times 10^{10}$
4	$5,49 \times 10^{10}$	$1,27 \times 10^{10}$	$2,54 \times 10^{11}$	$4,11 \times 10^{10}$
5	$1,10 \times 10^{11}$	$3,71 \times 10^{10}$	$2,70 \times 10^{11}$	$4,46 \times 10^{10}$
6	$3,29 \times 10^{10}$	$3,26 \times 10^{10}$	$2,82 \times 10^{11}$	$8,13 \times 10^{10}$
7	$2,55 \times 10^{10}$	$6,25 \times 10^{10}$	$2,93 \times 10^{11}$	$1,32 \times 10^{11}$
Laju Pertumbuhan (sel/jam)	0,0172	0,0387	0,0457	0,0359

Lampiran 4. Penurunan TPH dan COD pada optimasi rasio C:N:P

Rasio C:N:P	TPH Awal (g/100mL)	TPH Akhir (g/100mL)	COD Awal (g/100mL)	COD Akhir (g/100mL)
100:10:1	14,500	7,003	91,437	45,713
100:10:0,5	14,500	7,328	91,437	51,723

100:5:1	14,500	4,850	91,437	13,547
100:5:0,5	14,500	6,860	91,437	34,581

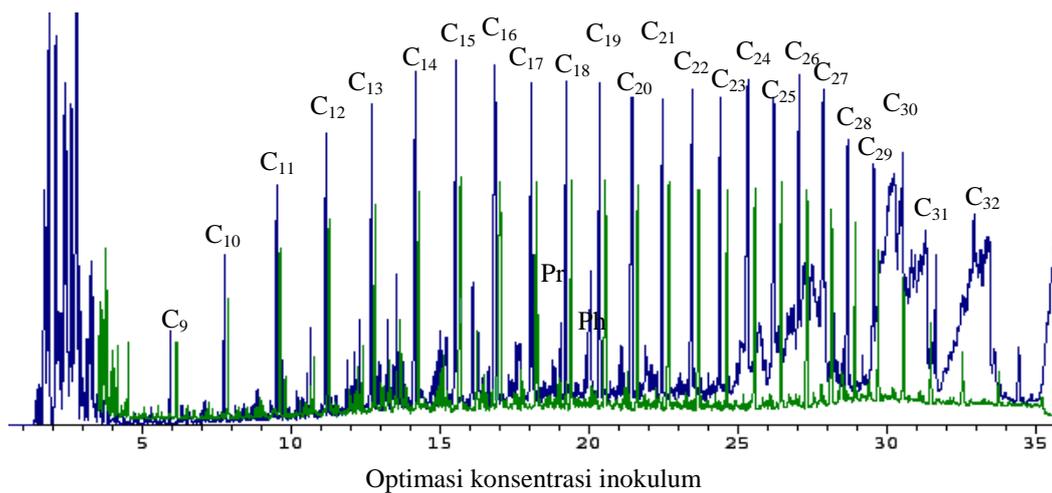
Lampiran 5. Total plate count optimasi pH

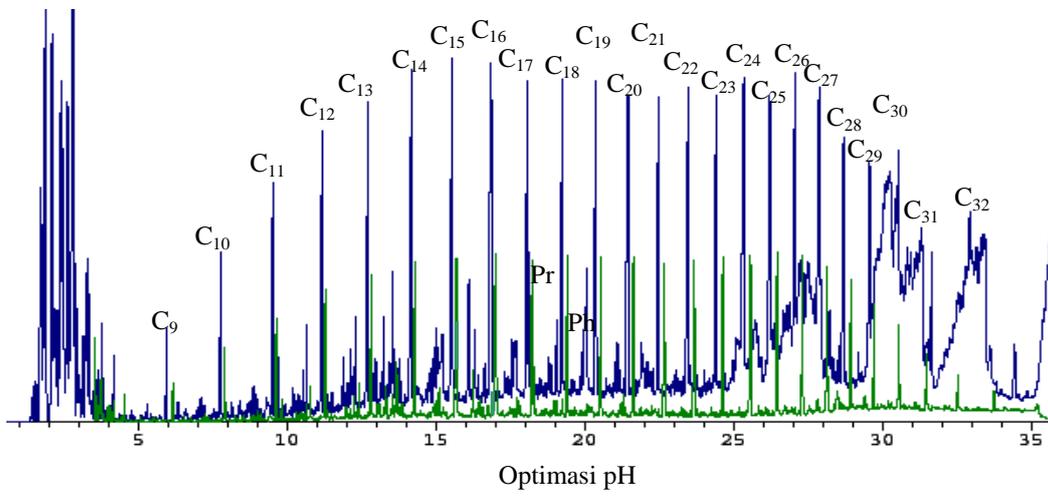
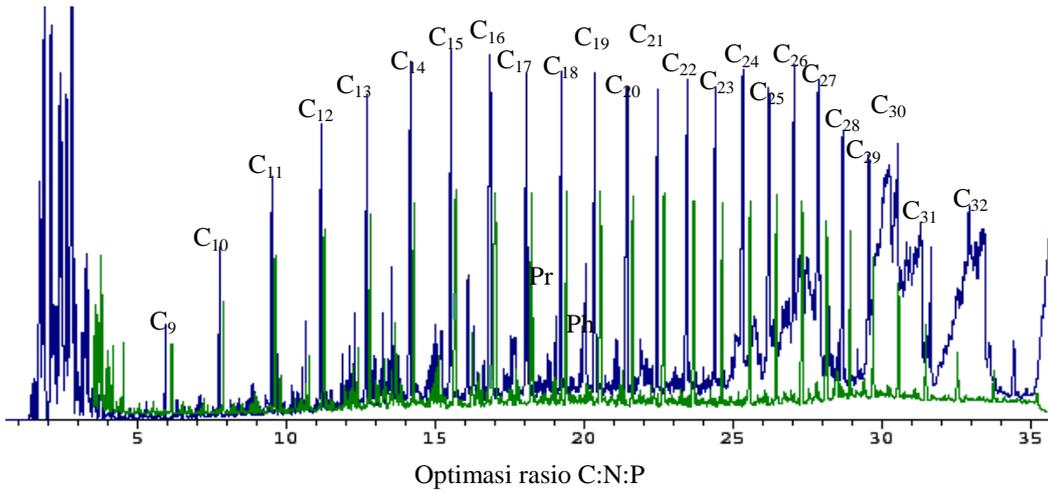
Jumlah Sel (CFU/mL) Hari Ke-	pH		
	6,5	7,0	7,5
0	$2,41 \times 10^6$	$3,01 \times 10^6$	$2,66 \times 10^6$
1	$2,59 \times 10^9$	$2,83 \times 10^{10}$	$2,18 \times 10^{10}$
2	$1,35 \times 10^{10}$	$2,39 \times 10^{10}$	$1,11 \times 10^{11}$
3	$1,34 \times 10^{11}$	$2,11 \times 10^{11}$	$1,98 \times 10^{11}$
4	$2,68 \times 10^{11}$	$2,93 \times 10^{11}$	$2,84 \times 10^{11}$
5	$3,00 \times 10^{11}$	$3,56 \times 10^{11}$	$3,68 \times 10^{11}$
6	$3,24 \times 10^{11}$	$3,74 \times 10^{11}$	$3,79 \times 10^{11}$
7	$3,40 \times 10^{11}$	$3,81 \times 10^{11}$	$4,18 \times 10^{10}$
Laju Pertumbuhan (sel/jam)	0,0289	0,0406	0,0446

Lampiran 6. Penurunan TPH dan COD hasil optimasi pH

pH	TPH Awal (g/100mL)	TPH Akhir (g/100mL)	COD Awal (g/100mL)	COD Akhir (g/100mL)
6,5	14,500	4,765	91,437	14,580
7,0	14,500	4,582	91,437	14,007
7,5	14,500	3,880	91,437	12,542

Lampiran 7. Kromatogram hasil optimasi konsentrasi inokulum, rasio C:N:P, dan pH terbaik





Keterangan :

- : Kontrol
- : Hasil optimasi