

BIOREMEDIASI TANAH TERCEMAR MINYAK DENGAN TEKNIK BIOAUGMENTASI DAN BIOSTIMULASI

Hafiluddin

Jurusan Ilmu Kelautan Fakultas Pertanian Universitas Trunojoyo Madura

Abstract

The rapid development of the oil industry sector in addition to providing a positive impact of improving the welfare of the people also give adverse effects to the occurrence of environmental pollution. Bioremediation is the application of the principles of biological processes to treat groundwater, soil, and sludge contaminated with hazardous chemical substances such as oil. The purpose of this research was to reduce the oil content in soil contaminated by using bioaugmentation and biostimulation technique. The study was conducted with a sample media preparation, analysis of oil content (gravimetric), pH analysis, and analysis of the number of microbes (total plate count). Bioremediation technique that has biostimulation and bioaugmentation can be used to reduce the oil content in oil-contaminated soil. Oil content in treatment bioaugmentation and biostimulation reduced to under 1% after 60 days of observation. Total bacterial colony has increased for all treatments (biostimulation and bioaugmentation) after 60 days of observation.

Key Words : bioremediation, bioaugmentation, biostimulation, oil

Pendahuluan

Minyak bumi merupakan sumber energi utama yang digunakan pada industri transportasi dan rumah tangga. Kegiatan industri minyak bumi merupakan suatu rangkaian proses yang kompleks mulai dari hulu sampai hilir. Pesatnya perkembangan disektor industri minyak selain memberikan dampak positif yaitu meningkatkan kesejahteraan rakyat juga memberikan efek samping dengan terjadinya pencemaran lingkungan. (Haris 2003).

Minyak bumi maupun limbahnya merupakan campuran kompleks senyawa organik yang terdiri atas senyawa hidrokarbon dan non hidrokarbon. Senyawa hidrokarbon merupakan komponen terbesar dari minyak bumi yaitu lebih dari 90%, sedangkan sisanya berupa senyawa-senyawa non hidrokarbon (Udiharto 1996).

Teknologi pengolahan limbah yang saat ini mulai diterapkan adalah metode bioremediasi. Berkembangnya teknologi ini adalah karena teknik penerapannya yang relatif mudah dilapangan dengan biaya oprasional yang murah. Teknologi proses bioremediasi cukup potensial diterapkan di Indonesia. Kondisi iklim tropis dengan sinar matahari, kelembaban yang tinggi, serta keanekaragaman mikroorganisme yang tinggi sangat mendukung

percepatan proses pertumbuhan mikroba untuk aktif mendegradasi minyak.

Bioremediasi adalah aplikasi dari prinsip-prinsip proses biologi untuk mengolah air tanah, tanah, dan lumpur yang terkontaminasi zat-zat kimia berbahaya seperti minyak. Tujuan akhir bioremediasi adalah meminimalisasi kontaminan, yaitu mengubah senyawa kimia berbahaya menjadi kurang berbahaya seperti karbon dioksida atau beberapa gas lain, senyawa anorganik, air, dan materi yang dibutuhkan oleh mikroba pendegradasi (Eweis *et al.* 1998 *diacu dalam* Munawar *et al.* 2007).

Keberadaan mikroorganisme (bakteri, jamur, dan khamir) pendegradasi hidrokarbon tersebar luas di alam. Mikroorganisme tertentu dapat mendegradasi senyawa hidrokarbon dan menggunakannya sebagai sumber energi. Mikroba menggunakan hidrokarbon minyak untuk pertumbuhannya dengan memotong hidrokarbon alifatik, sikloalifatik, dan aromatik. Mekanisme biodegradasi minyak sangat beragam tergantung pada komposisi hidrokarbon yang dikandungnya. (Brock *et al.* 1994; Pandia *et al.* 1995 *diacu dalam* Nurhariyati *et al.* 2006).

Pengembangan dan aplikasi bioremediasi harus melakukan *treatibility study* atau *treatment evaluation* yang dilakukan di laboratorium yang bertujuan untuk mengetahui tingkat degradabilitas polutan dan mengetahui komposisi nutrient yang optimal. Selain itu

treatability study dapat memperkirakan waktu yang dibutuhkan untuk menghilangkan polutan sampai batas tertentu (OTA 1991).

Bahan Dan Metode

Penelitian ini dilaksanakan pada April–Juni 2009 di Laboratorium Bioteknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah oli, kloroform, yeast ekstrak, peptone, NaCl, agar, akuades, kompos (*bulking agent*), pupuk NPK, *top soil*.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pH indikator (*universal pH indicator*), tabung reaksi, pipet, cawan petri, gelas ukur, timbangan digital, *hot plate stirrer*, *autoclave*, *incubator*, oven, *laminar flow*, dan *magnetic stirrer*.

Pembuatan media sampel

a. Kontrol

Minyak oli ditimbang sebanyak 50 gram dimasukkan dalam wadah plastik (baki) ditambahkan top soil 1000 gram, NPK 10 gram dan NaCl 22,5 gram.

b. Biostimulasi

Minyak oli ditimbang sebanyak 50 gram dimasukkan dalam wadah plastik (baki) ditambahkan top soil 1000 gram, NPK 10 gram, NaCl 22,5 gram, kompos 500 gram.

c. Bioaugmentasi

Minyak oli ditimbang sebanyak 50 gram dimasukkan dalam wadah plastik (baki) ditambahkan top soil 1000 gram, NPK 10 gram, NaCl 22,5 gram, kompos 500 gram, bakteri *Pseudomonas* dari petrocina 50 gram.

Pengenceran dan inokulasi bakteri pada media

Media larutan yang mengandung garam fisiologis pada tabung-tabung reaksi yang telah disterilkan, dibawa ke ruang *laminar flow*. Setelah itu diambil 1 ml kultur bakteri yang terdapat pada media erlenmeyer yang mengandung minyak mentah dengan menggunakan pipet yang steril. Kemudian diletakkan pada tabung reaksi yang mengandung garam fisiologis dan dihomogenkan. Tabung reaksi tersebut sebagai tingkat pengenceran 10^{-3} . Demikian seterusnya sampai diperoleh dengan tingkat pengenceran

10^{-7} untuk perlakuan kontrol, bioaugmentasi, biostimulasi dilakukan hingga hari ke-75.

Media agar pada tabung reaksi yang telah disterilkan pada autoklaf selama 15 menit suhu 121°C dengan tekanan 1 atm, didinginkan sampai suhu $\pm 45^{\circ}\text{C}$ atau telah terasa hangat, kemudian diambil sebanyak 1 ml kultur bakteri yang terdapat pada tabung reaksi tingkat pengenceran 10^{-3} dimasukkan ke dalam media agar dengan bantuan pipet steril. Selanjutnya dari media agar tersebut yang telah mengandung kultur bakteri pada tingkat pengenceran 10^{-5} tersebut dimasukkan ke dalam cawan petri yang disterilkan. Cawan petri diputar-putar untuk menyebarkan suspensi secara merata pada media agar tersebut, lalu dibiarkan sampai membeku. Selanjutnya di balik dan diberi perekat dan dilabelling. Dilakukan pada tahap tingkat pengenceran berikut sampai selesai.

Selanjutnya cawan-cawan petri tersebut dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam dengan posisi terbalik. Kemudian pertumbuhan bakteri pada cawan petri tersebut dihitung setelah masa inkubasi berakhir. Jumlah koloni bakteri yang dihitung pada cawan petri adalah berjumlah antara 30–300 koloni. Kemudian jumlah yang diperoleh dikalikan dengan faktor pengenceran.

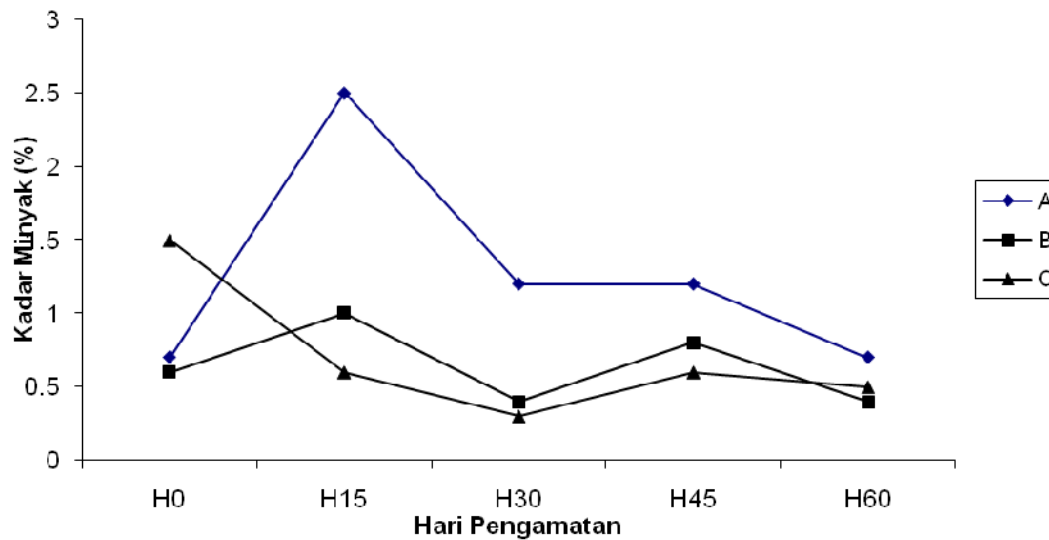
Jumlah koloni = jumlah koloni x 1/faktor pengenceran

Pengukuran kadar minyak (metode gravimetri)

Penurunan total kandungan minyak ditentukan selama 60 hari. Presentase total kandungan minyak diplotkan terhadap waktu. Untuk mengukur kadar minyak digunakan metode gravimetri.

Sebanyak 5 gram sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kloroform sebanyak 15 ml ditambahkan lalu divortex. Sampel disaring ke dalam cawan petri menggunakan kertas saring. Sebelum dilakukan penyaringan, cawan petri kosong ditimbang beratnya (Y). Penyaringan dilakukan 3 kali. Hasil saringan diuapkan dalam ruangan asam sampai mengering. Kemudian ditimbang berat residunya (X). Berat total hidrokarbon diplotkan terhadap waktu.

Berat total minyak (g/100 g) = $((X-Y)/5 \text{ g sampel}) \times 100 \text{ gram}$



Gambar 1. Prosentase kadar minyak pada masing-masing perlakuan; (A) kontrol, (B) biostimulasi, (C) bioaugmentasi

Pengukuran pH

Setiap sampel media control, biostimulasi, dan bioaugmentasi masing-masing ditimbang 1 gram ditambahkan 9 ml akuades dengan perbandingan 1:9 kemudian disaring. Diukur pH dengan menggunakan kertas pH indikator universal.

Hasil Dan Pembahasan

Kadar minyak

Hasil pengamatan terhadap kadar minyak sampel diperlihatkan bahwa kadar minyak sampel secara umum mengalami penurunan (Gambar 1). Kadar minyak sampel pada saat H₀ berkisar dari 0,5% pada perlakuan biostimulasi sampai 1,5% pada perlakuan bioaugmentasi. Nilai kadar minyak pada semua perlakuan tersebut lebih rendah dari pada minyak yang ditambahkan yaitu sebesar 5 %, hal ini disebabkan karena tipe top soil yang digunakan merupakan tanah liat yang mempunyai tingkat porositas rendah sehingga minyak banyak terperangkap dalam tanah dan tidak larut secara sempurna pada saat pengukuran.

Nilai kadar minyak terendah terdapat pada perlakuan biostimulasi (0,6 %) hal ini disebabkan karena sampel yang diambil kurang

merata sehingga sampel yang terambil berupa bagian top soilnya sehingga pada saat vortek sampel mengalami penggumpalan dan minyak terperangkap di dalamnya. Sedangkan nilai tertinggi terdapat pada bioaugmentasi (1,5%), hal ini mungkin disebabkan karena pada perlakuan ini terdapat penambahan bulking agent sehingga porositas lebih tinggi. Kemudian hal lain juga disebabkan karena sampel yang terambil pada saat pengukuran berupa bulking agent atau campuran lainnya sehingga pada saat vortek banyak minyak yang larut.

Hasil pengukuran kadar minyak pada hari ke-15 (H₁₅) menunjukkan kisaran antara 0,6% (bioaugmentasi) sampai 2,5% (kontrol). Adanya peningkatan kadar minyak ini disebabkan karena sampel yang diambil lebih homogen terutama diambil dari partikel-partikel yang berukuran kecil sehingga minyak banyak yang larut. Sedangkan kadar minyak pada biostimulasi yaitu turun menjadi 0,6%, hal ini disebabkan karena pada biostimulasi sudah terjadi degradasi minyak oleh bakteri petro cina yang ditambahkan ke dalam sampel.

Kadar minyak pada hari ke-30 secara umum mengalami penurunan dan berkisar antara 0,3% (bioaugmentasi) sampai 1,2%

(kontrol). Penurunan kadar minyak ini disebabkan karena terjadi degradasi minyak oleh bakteri. Rendahnya kadar minyak pada perlakuan bioaugmentasi disebabkan karena bakteri yang ditambahkan merupakan bakteri spesifik pendegradasi minyak yang diambil dari petro cina sehingga bakteri lebih cepat beradaptasi dan lebih cepat mendegradasi minyak. Sedangkan pada perlakuan biostimulasi bakteri tidak terlalu cepat dalam beradaptasi dalam lingkungan yang mengandung minyak sehingga lebih lambat untuk mendegradasi minyak.

Kadar minyak pada hari ke-45 berkisar antara 0,6% (bioaugmentasi) sampai 1,2% (kontrol). Kadar minyak ini mengalami peningkatan kembali, hal ini dimungkinkan karena sampel yang diambil untuk analisa kurang homogen yaitu berupa media yang banyak mengandung minyak sehingga banyak minyak yang larut. Sedangkan pada kontrol kadar minyak tidak mengalami perubahan karena minyak tidak terdegradasi oleh bakteri.

Kadar minyak pada akhir pengamatan hari ke-60 secara umum mengalami penurunan dan berkisar antara 0,4% (biostimulasi) sampai 0,7% (kontrol). Pada akhir pengamatan jumlah kadar minyak sudah mengalami penurunan sampai di bawah batas aman seperti yang disyaratkan dalam Kepmen 128 tahun 2000 yaitu sebesar 1%. Hal ini membuktikan bahwa bakteri yang terdapat dalam sampel bisa melakukan degradasi terhadap minyak.

Secara umum kadar minyak mengalami penurunan terutama pada metode biostimulasi dan bioaugmentasi hal ini disebabkan karena pada metode tersebut terdapat bakteri

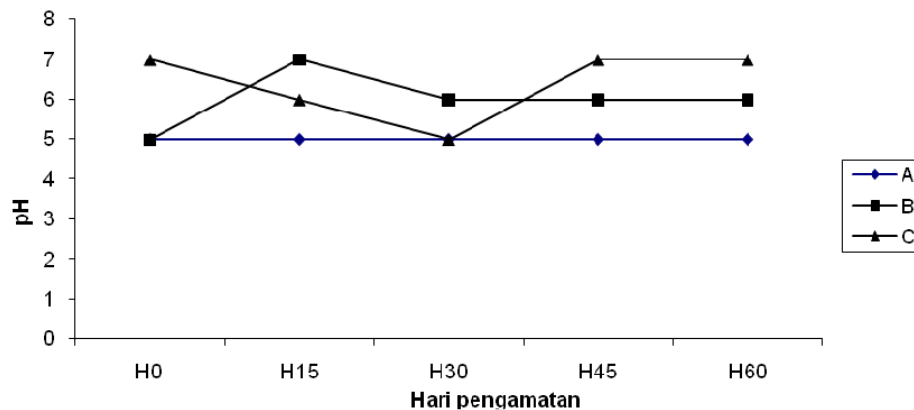
pendegradasi minyak yang tumbuh dengan baik. Terjadinya proses biodegradasi dengan menggunakan mikroba dipengaruhi oleh kondisi lingkungan seperti ketersediaan nutrisi, pH, suhu, suplai oksigen, dan bakteri indigeneous sendiri yang memiliki kemampuan mendegradasi kontaminan. Leahy dan Colwell (1990) menjelaskan bahwa suhu dapat mempengaruhi sifat fisika kimia komponen minyak bumi, proses degradasi dan komposisi komunitas mikroorganisme.

Mikroorganisme membutuhkan karbon untuk melangsungkan hidupnya. Sumber karbon didapat dari hidrokarbon itu sendiri (Wong *et al.* 1997). Sedangkan nitrogen dan fosfor yang juga sangat dibutuhkan oleh bakteri menjadi faktor pembatas. Penambahan NPK bertujuan untuk memberikan nutrisi bagi bakteri sebagai sumber nitrogen dan fosfor.

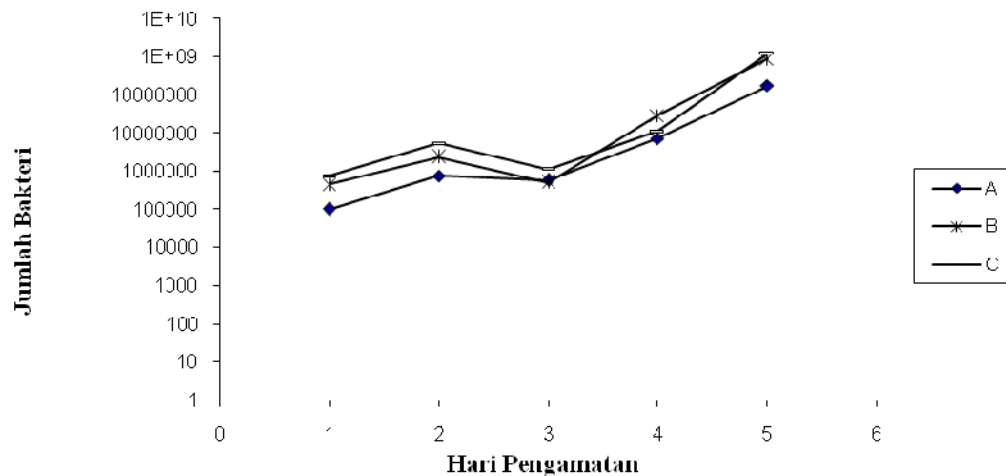
Suplai oksigen sangat dibutuhkan karena bakteri yang digunakan adalah bakteri anaerob (bakteri yang membutuhkan O_2 untuk melangsungkan aktifitasnya). Suplai oksigen diperoleh dengan cara pengadukan selama proses bioremediasi. Selain itu penambahan kompos bertujuan untuk meningkatkan porositas pada tanah agar minyak tidak menggumpal sehingga oksigen dapat masuk ke dalam pori-pori tanah (Fatmawanti, 2003).

Pengukuran pH

Kurva hasil pengukuran pH disajikan pada Gambar 2. Pada grafik tersebut terlihat bahwa nilai pH sampel berkisar dari 5 sampai 7 selama pengamatan.



Gambar 2. Kadar pH pada berbagai perlakuan; (A) kontrol, (B) biostimulasi, (C) bioaugmentasi



Gambar 3. Jumlah bakteri pada berbagai perlakuan; (A) kontrol, (B) biostimulasi, (C) bioaugmentasi

Hasil pengukuran pH pada hari ke-0 (H_0) berturut-turut untuk kontrol adalah 5, biostimulasi adalah 5 dan bioaugmentasi adalah 7. Pada perlakuan kontrol dan biostimulasi, nilai pH sampel rendah yang disebabkan karena kedua perlakuan tersebut terdapat minyak yang mengandung pH rendah. Tingginya nilai pH pada bioaugmentasi disebabkan karena pada treatment bioaugmentasi terdapat penambahan balking agent dan kompos, serta N,P,K. Homogenitas penambahan pupuk tersebut juga kurang merata sehingga pada saat pengambilan sampel dimungkinkan yang terambil berupa pupuk sehingga menyebabkan pH lebih tinggi. Sedangkan kompos untuk membantu menyumbangkan populasi mikroorganisme pendegradasi yang besar dan beragam berfungsi sebagai bahan tambahan nutrisi dengan kondisi basa.

Pada pengamatan nilai pH hari ke-15 (H_{15}) berkisar antara 5 (kontrol) sampai 7 (biostimulasi), sedangkan pada bioaugmentasi sebesar 6, hal ini disebabkan karena dalam kontrol tidak ada penambahan nutrisi, sedangkan pada biostimulasi adanya penambahan nutrisi yang menyebabkan kondisi tanah menjadi basa, untuk treatment bioaugmentasi nilai pH menurun disebabkan karena adanya perubahan metabolit bakteri. Sedangkan untuk H_{30} , H_{45} dan H_{60} perubahan yang terjadi pada pH relatif sama hal ini

disebabkan karena bakteri pendegradasi sudah mulai teradaptasi dengan baik.

Perubahan pH yang terjadi pada ketiga perlakuan diatas tidak menunjukkan perubahan pH secara signifikan hal ini mungkin disebabkan karena pada H_0 sampai H_{30} proses degradasi hidrokarbon sedangkan berlangsung kemudian setelah H_{30} ketiga perlakuan tidak menunjukkan adanya perubahan pH demikian juga dengan pengamatan TPH setelah H_{30} tidak menunjukkan lagi penurunan TPH yang signifikan atau TPH kurang dari 1%. Kendala yang dialami pada pengamatan pH hampir sama dengan pengamatan TPH yaitu karakteristik tanah berupa tanah liat yang memiliki porositas kecil dan permeabilitas rendah sehingga penetrasi air atau minyak sulit menyatu (homogenitas rendah) sehingga mempengaruhi faktor sampling yang dilakukan.

Total bakteri (total plate count)

Analisa total bakteri bertujuan untuk mengetahui secara kuantitatif pertumbuhan bakteri yang ditumbuhkan pada media nutrisi agar yang telah ditambahkan limbah minyak. Hasil pengamatan terhadap pertumbuhan bakteri ternyata bakteri mampu mendegradasi limbah minyak yang ditandai dengan pertumbuhan bakteri yang semakin meningkat (Gambar 3). Jumlah total bakteri pada Gambar 3 menunjukkan bahwa terjadi peningkatan dari awal pengamatan (H_0) sampai akhir

pengamatan (H_{60}) antara perlakuan kontrol (A), biostimulasi (B), dan bioaugmentasi (C). Diantara 3 perlakuan tersebut juga menunjukkan adanya perbedaan jumlah bakteri. Perlakuan bioaugmentasi menunjukkan jumlah bakteri terbesar pada setiap pengamatan, dan mengalami peningkatan sampai akhir pengamatan (H_{60}). Jumlah bakteri perlakuan kontrol (A) pada pengamatan awal (H_0) sebesar 1×10^5 , biostimulasi (B) sebesar $4,5 \times 10^5$, dan bioaugmentasi (C) sebesar $7,5 \times 10^5$. Jumlah bakteri pada akhir pengamatan (H_{60}) menunjukkan bahwa pada kontrol (A) sebesar $1,7 \times 10^8$, biostimulasi (B) sebesar $8,7 \times 10^8$, dan bioaugmentasi sebesar $1,2 \times 10^9$. Meningkatnya jumlah bakteri menunjukkan bahwa hidrokarbon yang ada dalam tanah bisa dimanfaatkan untuk pertumbuhan bakteri. Sabarni (1995) menjelaskan bahwa penambahan jumlah sel dapat diukur sebagai fungsi pemakaian hidrokarbon untuk pertumbuhan mikroorganisme.

Kesimpulan Dan Saran

Kesimpulan

Kesimpulan yang bisa dikemukakan dari hasil penelitian ini adalah:

1. Teknik bioremediasi yaitu biostimulasi dan bioaugmentasi bisa digunakan untuk mengurangi kadar minyak dalam tanah yang tercemar minyak.
2. Kandungan minyak pada perlakuan biostimulasi dan bioaugmentasi berkurang sampai dibawah 1% setelah 60 hari pengamatan.
3. Total koloni bakteri mengalami peningkatan untuk semua perlakuan (biostimulasi dan bioaugmentasi) setelah 60 hari pengamatan.

Saran

Saran yang bisa dilakukan untuk penelitian selanjutnya adalah perlunya dilakukan identifikasi jenis-jenis bakteri pendegradasi minyak yang terdapat pada tanah tercemar minyak.

Daftar Pustaka

Fatmawanti F. 2003. Uji Toksisitas Hasil Remediasi Lumpur Minyak Dengan Mikroalga Terhadap Tanaman Bayam

(*Amaranthus tricolor*) Caisim (*Brassica Juncea*). Skripsi. Jurusan Teknologi Hasil Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.

Haris A. 2003. Peranan Mikroba Dalam Mendegradasi Minyak Bumi dan Fenol pada Air Terproduksi dari Industri Perminyakan (Tesis). Bogor: Program Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor.

Leahy JG, Colwell RR. 1990. Microbial degradation of hidrocarbon in the invironment. Departement of Microbiology, University of Marylnd, Cpllege Park, Maryland. *Microbiological Review*.305-315.

Munawar, Mukhtasor, Surtiningsieh T. 2007. Bioremediasi tumpahan minyak mentah dengan metode biostimulasi nutrient organic di lingkungan pantai Surabaya Timur. *Berk. Penel. Hayati*. 13 : 91-96.

Nurhariyati T, Ni'matuzahroh, Surtiningsieh T. 2006. Biodegradasi minyak oleh *Rhodotorula* dan *Candida* hasil isolasi dari pelabuhan tanjung perak Surabaya. *Berk. Penel. Hayati*. 12 : 27-31.

OTA [Office of Technology Assessment]. 1991. *Bioremediation for Marine Oil Spills*. OTA-BP-O-70 Washington DC: U.S. Government Printing Office

Sabarni, N. 1995. Kemampuan *Pseudomonas fluorescens* FNCC 0070 dalam Biodegradasi Toluena (C_7H_8) dengan Penambahan Urea sebagai Sumber Nitrogen. Skripsi. UNSOED. Purwokerto.

Udiharto M. 1996. Aktivitas Mikroba dalam Degradasi Minyak Bumi. Di dalam *Prosiding Diskusi Ilmiah VII Hasil Pertanian LEMIGAS*. Februari. PPPTMGB "LEMIGAS". Jakarta.

Wong HC, Lim CH, Wolem GC. 1997. *Design of Remediation System*. Lewis Publisher, New York.