



UNIVERSITAS INDONESIA

**PERBANDINGAN BIOSTIMULASI DAN BIOAUGMENTASI
DALAM BIOREMEDIASI PANTAI TERCEMAR MINYAK
BUMI**

SKRIPSI

**DWI AJENG SARASPUTRI
NPM. 0706275542**

**FAKULTAS TEKNIK
PROGRAM STUDI TEKNIK LINGKUNGAN
DEPOK
JUNI 2011**



UNIVERSITAS INDONESIA

**PERBANDINGAN BIOSTIMULASI DAN BIOAUGMENTASI
DALAM BIOREMEDIASI PANTAI TERCEMAR MINYAK
BUMI**

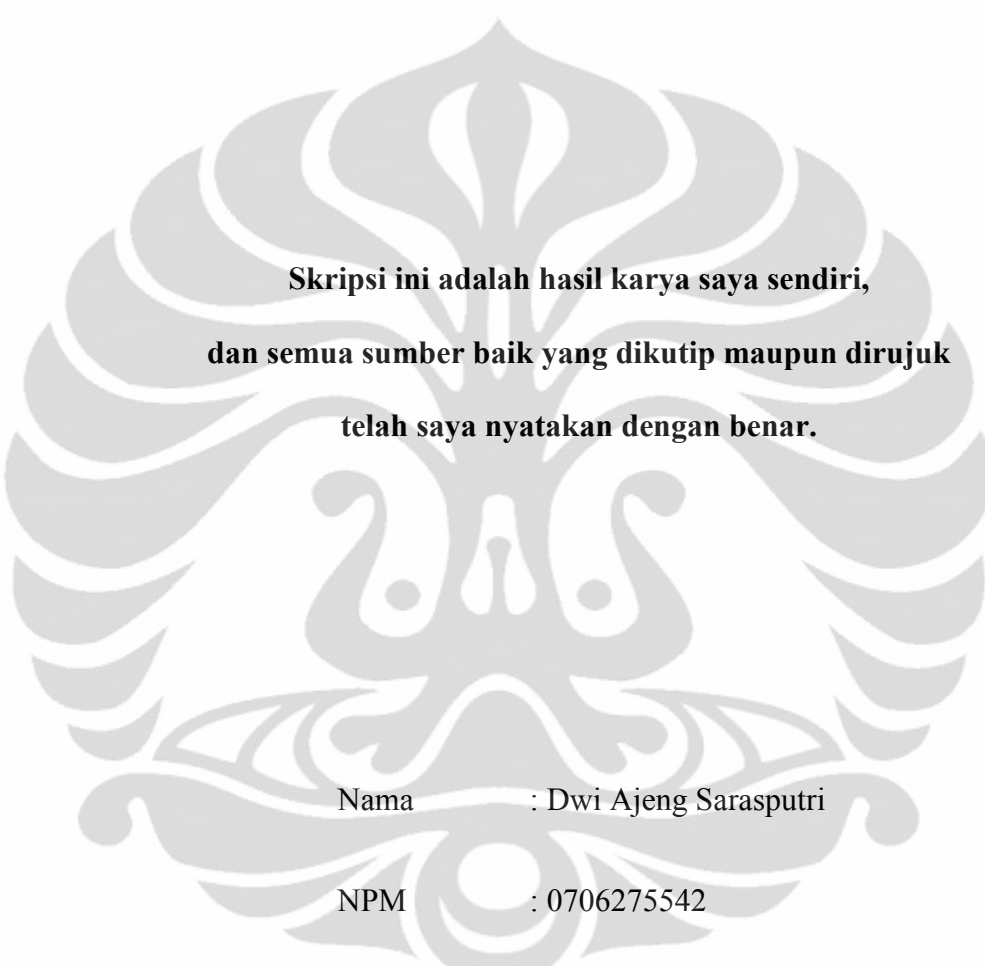
SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat memperoleh gelar
Sarjana Teknik Lingkungan**

**DWI AJENG SARASPUTRI
NPM. 0706275542**

**FAKULTAS TEKNIK
PROGRAM STUDI TEKNIK LINGKUNGAN
DEPOK
JUNI 2011**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS



**Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar.**

Nama : Dwi Ajeng Sarasputri

NPM : 0706275542

Tanda tangan :

Tanggal : 14 Juni 2011

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Dwi Ajeng Sarasputri
NPM : 0706275542
Program Studi : Teknik Lingkungan
Judul Skripsi : PERBANDINGAN BIOSTIMULASI DAN
BIOAUGMENTASI DALAM BIOREMEDIASI
PANTAI TERCEMAR MINYAK BUMI

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik Lingkungan dalam Program Studi Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia.

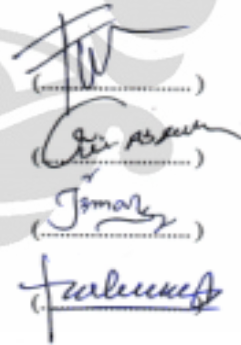
DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Dr. Ir. Firdaus Ali, MSc

Pembimbing : Dr. -Ing. M. Abdul Kholiq, MSc

Penguji : Ir. Irma Gusniani, MSc

Penguji : Ir. Gabriel SB Andari, Meng, PhD



(.....)
(.....)
(.....)
(.....)

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 14 Juni 2011

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Kuasa, karena atas kasih dan limpahan berkat-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul **Perbandingan Biostimulasi dan Bioaugmentasi dalam Bioremediasi Pantai Tercemar Minyak Bumi**, yang merupakan salah satu syarat penyelesaian pendidikan program Sarjana (S1) pada Program Studi Teknik Lingkungan Universitas Indonesia.

Skripsi ini tidak akan selesai tanpa bantuan dari banyak pihak yang telah memberikan bantuan kepada penulis. Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. Ir. Firdaus Ali, MSc dan Dr. –Ing. M. Abdul Kholiq, MSc selaku pembimbing yang telah memberikan bimbingan kepada penulis mulai dari perencanaan penelitian hingga skripsi ini dapat diselesaikan.
2. Dr. Ir. Iqbal, M. Eng selaku kepala Balai Teknologi Lingkungan BPPT yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk melakukan penelitian di Balai Teknologi Lingkungan-BPPT.
3. Ibu Nida Sopiah, SSi, MSi., Bapak Arif, Bapak Insan, Mbak Fuzi, Mbak Susi, dan Mbak Titin yang telah membantu penulis dalam melakukan penelitian di Laboratorium Proses dan Laboratorium Kimia Analitik.
4. Ir. Irma Gusniani, MSc yang telah memberikan izin penggunaan Laboratorium Teknik Penyehatan dan Lingkungan, serta Diah yang telah banyak memberikan bantuan kepada penulis.
5. Hidayat, Pak Atang, dan bapak-bapak satpam yang selalu memberi bantuan kepada penulis untuk pekerjaan-pekerjaan dalam proses penelitian yang tidak mungkin penulis lakukan tanpa bantuan.
6. Ibu dan bapak atas dukungan yang telah diberikan, baik secara materiil maupun moril, serta untuk semangat dan doanya kepada penulis.
7. Ardhana Putranto yang selalu memberikan dukungan, semangat dan doa kepada penulis.
8. Rekan-rekan Teknik Lingkungan UI 2007 atas semangat dan kerjasamanya.

9. Pihak-pihak lainnya yang tidak bisa dituliskan namanya satu-persatu atas segala bantuannya kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna dikarenakan oleh keterbatasan wawasan dan pengalaman penulis sebagai mahasiswa. Kritik dan saran yang membangun dari semua pihak sangat diharapkan sehingga kiranya dapat meningkatkan kemampuan dan wawasan penulis. Pada akhirnya, penulis berharap agar skripsi ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkannya.

Depok,

Juni 2011

Penulis



**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS
AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Dwi Ajeng Sarasputri
NPM : 0706275542
Program Studi : Teknik Lingkungan
Departemen : Teknik Sipil
Fakultas : Teknik
Jenis karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

**PERBANDINGAN BIOSTIMULASI DAN BIOAUGMENTASI DALAM
BIOREMEDIASI PANTAI TERSEMAR MINYAK BUMI**

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneklusif ini Universitas Indonesia berhak untuk menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal : 14 Juni 2011
Yang menyatakan

(Dwi Ajeng Sarasputri)

ABSTRAK

Nama : Dwi Ajeng Sarasputri
Program Studi : Teknik Lingkungan
Judul : PERBANDINGAN BIOSTIMULASI DAN BIOAUGMENTASI
DALAM BIOREMEDIASI PANTAI TERCEMAR MINYAK
BUMI

Ringkasan :

Pencemaran minyak di wilayah pantai akibat tumpahan minyak di laut (*oil spill*) merupakan masalah lingkungan yang sangat penting. Tumpahan minyak di laut, terutama kecelakaan tumpahan minyak skala besar, telah memberikan ancaman besar dan menyebabkan kerusakan yang luas pada lingkungan pesisir. Kontaminan dapat terakumulasi di dalam tubuh organisme laut dan berbahaya bagi manusia yang memakannya. Untuk menanggulangi masalah pencemaran minyak di pantai atau *coastal oil spill* ini, terdapat beberapa cara yang dapat dilakukan. Salah satunya adalah bioremediasi yang merupakan proses pemulihan suatu wilayah seperti tanah, air, atau pantai yang memanfaatkan mikroorganisme sebagai bakteri pemecah minyak.

Terdapat dua pendekatan dalam bioremediasi. 1) *bioaugmentation*, di mana mikroorganisme pendegradasi minyak ditambahkan untuk menambahkan populasi mikroba yang telah ada, dan 2) *biostimulation*, di mana pertumbuhan pendegradasi minyak asli distimulasi dengan penambahan nutrisi atau *cosubstrates* pembatas-pertumbuhan lainnya dan/atau perubahan habitat. Penelitian yang dilakukan di Balai Teknologi Lingkungan BPPT ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan nutrisi dan mikroba terhadap proses degradasi hidrokarbon oleh mikroorganisme melalui perbandingan antara metode biostimulasi dan bioaugmentasi, serta pengaruh pasang surut air laut terhadap penurunan kandungan minyak di pantai.

Eksperimen dilakukan dengan membuat simulasi pantai skala 5 kg yang dicampurkan minyak sebanyak 5% sebagai kandungan pencemar minyak awal dalam pasir pantai. Pada metode biostimulasi ditambahkan nutrisi dengan rasio C:N:P yaitu 100:10:1. Pada metode bioaugmentasi ditambahkan nutrisi dengan rasio yang sama dan mikroba yang berasal dari kultur biakan dan mikroba air laut. Simulasi air laut diberikan pada pantai yang terkena pengaruh pasang surut dengan periode tipe tunggal. Parameter yang diukur adalah temperatur, pH, kadar air, dan TPH. Mikroba yang digunakan berjumlah antara $(4,39 - 25,7) \times 10^6$ CFU/ml.

Secara umum, kadar TPH terendah dimiliki oleh metode bioaugmentasi pasang surut yaitu 2,189 % pada minggu ke 8 dan kadar TPH tertinggi yaitu 4,078 % yang dimiliki blanko tanpa pasang surut pada minggu ke 8. Perubahan kadar TPH dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu pasang surut, faktor lingkungan, dan mikroba. Penurunan TPH pada pasir yang terkena pengaruh pasang surut dimungkinkan terjadi karena efek pencucian oleh arus pasang surut yang

membawa kandungan minyak keluar. Pada bioremediasi tanpa pengaruh pasang surut, metode bioaugmentasi dapat menurunkan TPH lebih rendah dibandingkan dengan metode biostimulasi.

pH umumnya mengalami penurunan sampai minggu keempat sebelum selanjutnya mengalami kenaikan. Temperatur pasir secara keseluruhan berkisar antara 27°C-42°C. Pola perubahan temperatur pasir ini serupa dengan perubahan temperatur ambien sehingga diketahui bahwa temperatur pada pasir dipengaruhi oleh temperatur udara luar reaktor. Rasio C:N:P di awal penelitian adalah 100:10:1. Sedangkan rasio C:N:P di akhir penelitian mengalami penurunan. Hal ini yang menyebabkan degradasi TPH pada 4 minggu terakhir kurang signifikan karena komposisi nutrisi pada pasir sudah kurang optimal.

Kata kunci : Bioremediasi, biostimulasi, bioaugmentasi, pasang surut, TPH



ABSTRACT

Nama : Dwi Ajeng Sarasputri
Program Studi : Teknik Lingkungan
Judul : COMPARISON OF BIOSTIMULATION AND
BIOAUGMENTATION IN BIOREMEDIATION OF COASTAL
OIL SPILL

Ringkasan :

Contaminated coastal as a result of oil spill accident are important environmental problem. Oil spills at sea, especially large-scale oil spill accidents, has given a major threat and cause extensive damage to the coastal environment. Contaminants can accumulate in the body of marine organisms and harmful to humans who eat them. To overcome the problem of oil pollution on the beach or coastal oil spill, there are several ways we can do. One is bioremediation which is a process of recovery of an area such as soil, water, or beach that utilize microorganisms as oil degrading bacteria.

There are two approaches in bioremediation. 1) bioaugmentation, in which oil-degrading microorganisms are added to increase the number of an existing microbial population, and 2) biostimulation, in which the growth of indigenous oil degrading microbes stimulated by the addition of nutrients or other growth-limiting cosubstrates and/or habitat changes. This research which conducted at the Center of Environmental Technology BPPT aims to determine the effect of the addition of nutrients and microbes to the degradation of hydrocarbons by microorganisms through comparison between biostimulation and bioaugmentation methods, and the influence of the tides to the decrease of oil content on the beach.

Experiments carried out by creating a 5 kg simulated beach scale mixed with oils as much as 5% as the initial oil content of contaminants in beach sand. In the biostimulation method, nutrients added in the ratio C:N:P is 100:10:1. In the bioaugmentation method, nutrients added with the same ratio and microbes from the freshwater and sea water culture. Simulation of sea water is given to beaches that are affected by tidal with a single type period. The parameters measured are temperature, pH, water content, and TPH. Number of microbes that used range from (4,39 - 25,7) x 10⁶ CFU/ml.

In general, the lowest levels of TPH are owned by the tidal bioaugmentation method which is 2.189% at 8 weeks and the highest TPH levels of 4.078% is owned by the blank with no tides at 8 weeks. Changes in levels of TPH is influenced by several factors, namely tidal, environmental factors, and microbes. TPH decrease in sand exposed to tidal influence is possible due to the effects of leaching by tidal currents that carry oil content out. In bioremediation without the influence of tides, TPH of bioaugmentation method is lower than the biostimulation method.

pH generally decreased until the fourth week before the next increase. Overall temperature of the sand ranges between 27°C - 42°C. The pattern of changes in

sand temperature is similar to changes in ambient temperature so it is known that the temperature of the sand is affected by the temperature outside the reactor. While the ratio of C:N:P ratio at the end of the study was decrease from 100:10:1. This causes degradation of TPH in the last 4 weeks is less significant because of the nutritional composition of the sand is less than optimal.

Key words : bioremediation, biostimulation, bioaugmentation, tidal, TPH.



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR.....	v
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	vii
ABSTRAK	viii
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Batasan Masalah.....	5
1.4 Tujuan Penelitian.....	6
1.5 Manfaat Penelitian.....	6
2. LANDASAN TEORI.....	7
2.1 Pengertian Wilayah Pesisir.....	7
2.2 Pencemaran Lingkungan Laut dan Pesisir	8
2.3 Pengertian dan Karakteristik Minyak.....	9
2.4 Limbah Minyak sebagai Limbah B3	11
2.5 Sifat Minyak di Laut dan Pantai.....	13
2.6 Mikroorganisme Pendegradasi Minyak	15
2.7 Bioremediasi.....	16
2.8 Biostimulasi dan Bioaugmentasi.....	19
2.9 Faktor Pembatas Bioremediasi.....	20
2.10 <i>Total Petroleum Hydrocarbons</i> (TPH)	24
3. METODE PENELITIAN	25
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	25
3.2 Kerangka Berpikir	26
3.3 Teknik Penelitian.....	26
3.4 Pendekatan Penelitian	27
3.5 Metode Penelitian.....	30
3.6 Variabel Penelitian	30
3.7 Persiapan Sampel dan Reaktor.....	32
3.8 Simulasi Pasang Surut.....	33
3.9 Alat dan Bahan	34
3.10 Prosedur Penelitian.....	35
3.10.1 Pengukuran Total Petroleum Hydrocarbons (TPH).....	35
3.10.2 Pengukuran pH.....	36
3.10.3 Pengukuran Porositas.....	36
3.10.4 Analisis Kadar Minyak Bumi secara Gravimetri	37
3.10.5 Pemurnian Isolat.....	37
3.10.6 Karakterisasi Mikroorganisme	39

3.10.7	Pengecatan Gram	40
3.10.8	Enumerasi Mikroorganisme	41
4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	43
4.1	Perhitungan Penambahan Nutrisi	43
4.2	Inokulasi (<i>Seeding</i>) Mikroba	44
4.3	Karakterisasi Mikroorganisme	46
4.4	Enumerasi Mikroorganisme	47
4.5	Data <i>Total Petroleum Hydrocarbon</i>	50
4.6	Analisa <i>Total Petroleum Hydrocarbon</i>	51
4.6.1	Pasang Surut	52
4.6.2	Faktor Lingkungan	55
4.6.2.1	Kadar Air	55
4.6.2.2	pH	57
4.6.2.3	Temperatur	60
4.6.2.4	Nutrisi	62
4.6.3	Mikroba	64
4.7	Desain Bioremediasi	64
4.7.1	Pertimbangan Awal	65
4.7.2	Perencanaan Bioremediasi	67
4.7.3	Penilaian dan Penyelesaian	69
4.7.4	Aplikasi Bioremediasi	70
5.	KESIMPULAN DAN SARAN	744
5.1	Kesimpulan	744
5.2	Saran	744
	DAFTAR REFERENSI	766
	LAMPIRAN	80

DAFTAR TABEL

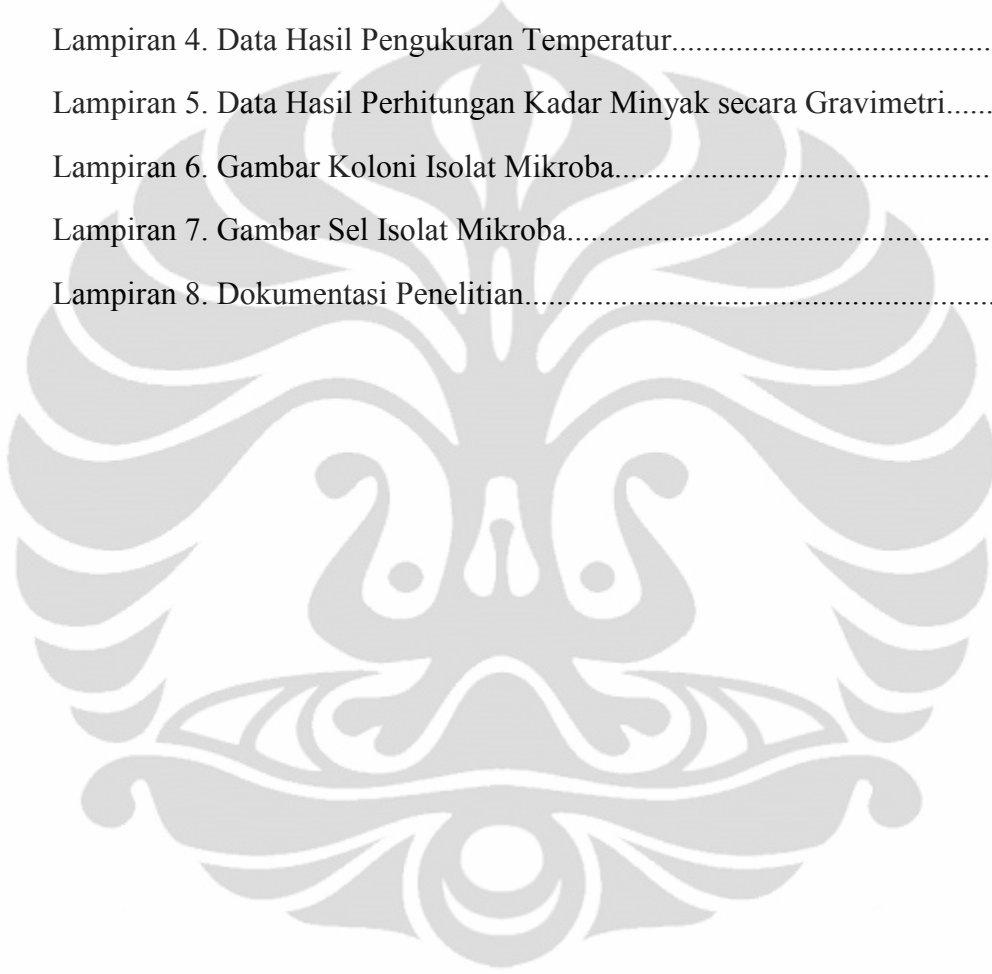
Tabel 3.1 Jadwal Pelaksanaan Penelitian.....	25
Tabel 3.2 Kombinasi Perlakuan pada Setiap Metode.....	32
Tabel 4.1 Karakteristik Koloni Isolat Mikroba Biakan.....	45
Tabel 4.2 Karakteristik Koloni Isolat Mikroba Air Laut.....	45
Tabel 4.3 Karakteristik Sel Isolat Mikroba.....	46
Tabel 4.4 Rata-rata Jumlah Koloni Isolat Mikroba Biakan.....	47
Tabel 4.5 Jumlah Koloni Mikroba Biakan (CFU/ml).....	48
Tabel 4.6 Rata-rata Jumlah Koloni Isolat Mikroba Air Laut.....	48
Tabel 4.7 Jumlah Koloni Mikroba Biakan (CFU/ml).....	49
Tabel 4.8 Data TPH Sampel Pasir dari Minggu 1 sampai Minggu 8.....	50
Tabel 4.9 Rasio C:N:P Pasir di Akhir Penelitian.....	62
Tabel 4.1 Beberapa Cara Penanganan Hasil Olahan Setelah Proses Pengolahan	73

DAFTAR GAMBAR

Gambar 3.1 Kerangka Berpikir Penelitian Bioremediasi Pantai Tercemar Minyak	26
Gambar 3.2 Diagram Alir Prosedur Penelitian Bioremediasi.....	29
Gambar 3.3 Periode Pasang Surut Tipe Diurnal.....	33
Gambar 3.4 Pengenceran Bertingkat.....	38
Gambar 4.1 Konsorsium Mikroba Hari Ke-1 dan Ke-6.....	41
Gambar 4.2 Konsorsium Mikroba Hari Ke-10.....	42
Gambar 4.3 Konsorsium Mikroba Air Tawar.....	42
Gambar 4.4 Ciri-ciri Koloni Berdasarkan Bentuk Koloni.....	44
Gambar 4.5 Ciri-ciri Koloni Berdasarkan Bentuk Tepian.....	44
Gambar 4.6 Grafik Penurunan TPH.....	51
Gambar 4.7 Grafik Penurunan TPH Pasang Surut.....	52
Gambar 4.8 Kadar Minyak yang Terbawa Arus Pasang Surut.....	53
Gambar 4.9 Grafik Penurunan TPH Tanpa Pasang Surut.....	54
Gambar 4.10 Kadar Air Pasir Awal dan Minggu ke-8.....	56
Gambar 4.11 pH Pasir Pasang Surut Selama Proses Bioremediasi.....	57
Gambar 4.12 pH Pasir Tanpa Pasang Surut Selama Proses Bioremediasi.....	58
Gambar 4.13 Perubahan Temperatur Pasir.....	60
Gambar 4.14 Perubahan Temperatur Ambien.....	61
Gambar 4.15 Prosedur untuk Menentukan dan Mengaplikasikan Boremediasi Tumpahan Minyak.....	65

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data <i>Total Petroleum Hydrocarbons</i>	72
Lampiran 2. Data Hasil Pengukuran pH.....	73
Lampiran 3. Data Hasil Pengukuran Kadar Air.....	73
Lampiran 4. Data Hasil Pengukuran Temperatur.....	74
Lampiran 5. Data Hasil Perhitungan Kadar Minyak secara Gravimetri.....	74
Lampiran 6. Gambar Koloni Isolat Mikroba.....	75
Lampiran 7. Gambar Sel Isolat Mikroba.....	77
Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian.....	79



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara kepulauan (archipelago state) terbesar di dunia yang terdiri atas 17.508 pulau dengan garis pantai sepanjang 81.000 km dan luas laut sekitar 3,1 juta km² (Dahuri *et al.*, 1996). Namun di samping itu, perairan laut Indonesia adalah salah satu perairan paling rentan di dunia terhadap pencemaran minyak. Hal ini disebabkan perairan laut Indonesia adalah rute utama transportasi minyak dunia dan disini terdapat 82 lokasi eksplorasi minyak yang terletak di pantai dan lepas pantai (LIPI, 2010). Hal ini mengakibatkan pantai Indonesia yang begitu luas tersebut sangat rentan terhadap resiko pencemaran minyak.

Pencemaran minyak di wilayah pantai akibat tumpahan minyak di laut (*oil spill*) merupakan masalah lingkungan yang perlu diantisipasi. Beberapa peristiwa tumpahan minyak telah terjadi berulang kali, seperti tumpahan minyak di Teluk Meksiko yang terjadi akibat ledakan pipa bawah laut milik British Petroleum (BP) pada 20 April 2010. Selama 87 hari sebelum ditutup, kebocoran yang terbentuk telah menyebabkan lebih dari 5 juta barrel tumpahan minyak dan menyebabkan pencemaran terburuk sepanjang sejarah (Pramudiarja, 2010). Gambar-gambar satelit dari University of Miami menunjukkan tumpahan minyak Teluk Meksiko berukuran hampir sebesar negara bagian Maryland yang luasnya lebih dari 24.000 kilometer persegi dengan titik tumpahan hanya 11 km dari garis pantai Florida.

Di Indonesia sendiri, sampai tahun 2001 telah terjadi 19 peristiwa tumpahan minyak termasuk kasus kebocoran ladang minyak dan gas Montara milik PT. TEP Australia di Laut Timor yang kerugiannya diperkirakan mencapai 10 triliun rupiah (Wahyuni, 2010).

Berdasarkan estimasi, antara 1,7 dan 8,8 juta ton minyak lepas ke perairan di seluruh dunia setiap tahunnya, yang mana lebih dari 90% langsung berhubungan dengan kegiatan manusia termasuk pembuangan limbah yang disengaja. Garis pantai laut merupakan sumber daya masyarakat dan ekologis yang sangat penting

yang menjadi rumah bagi beragam margasatwa dan sebagai tempat rekreasi masyarakat. Tumpahan minyak di laut, terutama kecelakaan tumpahan minyak skala besar, telah memberikan ancaman besar dan menyebabkan kerusakan yang luas pada lingkungan pesisir (Zhu *et al.*, 2001).

Pencemaran minyak di lautan memberikan akibat yang sangat luas. Minyak dapat dengan cepat akan menyebar di lautan dan dapat mencemari pantai. Pencemaran minyak ini berakibat buruk terhadap biota laut, ekosistem pantai, lingkungan laut, dan estetika. Selain itu, ikan atau hewan laut lainnya akan berbahaya bagi manusia yang memakannya walaupun organisme tersebut selamat karena memiliki efek jangka panjang. Nelayan juga akan menurun pendapatannya bahkan kehilangan mata pencahariannya jika kondisi lautan tercemar oleh minyak yang menyebabkan matinya tangkapan mereka. Tidak hanya nelayan, masyarakat pesisir juga akan merasakan dampaknya karena sebagian besar kehidupan mereka juga bergantung pada sektor perikanan laut. Pencemaran minyak juga memberikan dampak jangka panjang terhadap lingkungan sekitarnya, seperti perubahan karakteristik populasi laut dan pantai serta sistem ekologi.

Untuk menanggulangi masalah pencemaran minyak di pantai atau *coastal oil spill* ini, terdapat beberapa cara yang dapat dilakukan. Walaupun metode konvensional, seperti pembersihan secara fisik, merupakan pilihan respon utama, cara tersebut jarang mencapai hasil pembersihan tumpahan minyak yang sempurna (Zhu *et al.*, 2001). Salah satu yang dianggap cukup menjanjikan saat ini adalah dengan cara bioremediasi. Bioremediasi merupakan proses pemulihan suatu wilayah seperti tanah, air, atau pantai yang memanfaatkan mikroorganisme sebagai bakteri pendegradasi minyak. Karbon yang merupakan kandungan terbesar dalam minyak mentah adalah sumber energi bagi mikroorganisme, sehingga bioremediasi menjadi alternatif upaya pemulihan tanah, air, atau pantai tercemar minyak yang cukup potensial.

Pada ekosistem laut, degradasi cemaran minyak dibatasi oleh rendahnya temperatur air laut, kelangkaan *nutrient essential* terutama fosfor dan nitrogen, lepasnya oksigen terlarut ke udara, serta jarang sekali ditemukan mikroorganisme pendegradasi senyawa hidrokarbon dan sifat resisten serta toksisitas senyawa itu

sendiri (Susilorukmi, *et al.*, 2005). Oleh karena itu, supaya bioremediasi lahan tercemar minyak dapat berjalan dengan efektif, perlu dilakukan stimulasi pertumbuhan mikroorganisme yang akan mendegradasi polutan.

Bioremediasi telah menjadi salah satu cara pemulihan lahan terkontaminasi minyak yang tengah berkembang. Dalam beberapa pekan terakhir di bulan Agustus 2010, tumpahan minyak di Teluk Meksiko mulai menghilang (Pramudiarja, 2010). Walaupun tumpahan minyak tersebut telah dibersihkan oleh beberapa pihak, namun para peneliti lebih meyakini bahwa hilangnya minyak di teluk tersebut disebabkan oleh bakteri pemakan minyak. Peran bakteri yang dinamakan *oceanospirillales* itu terungkap saat peneliti memeriksa tumpahan minyak seluas 22 mil hingga kedalaman 1,09 km. Dalam kurun waktu 2 bulan hingga Juni 2010, bakteri pemakan karbon tersebut mengalami pertumbuhan pesat hingga jarak 6 mil dari lokasi pencemaran.

1.2 Perumusan Masalah

Pencemaran lingkungan pantai akibat tumpahan minyak mentah yang terjadi di laut merupakan permasalahan lingkungan yang perlu diantisipasi. Tumpahan minyak di laut dapat terbawa gelombang sampai ke pesisir dan berbahaya bagi ekosistem pesisir tersebut. Bioremediasi merupakan salah satu alternatif upaya pemulihan lingkungan dari dampak pencemaran minyak mentah yang cukup potensial.

Bioremediasi didefinisikan sebagai penggunaan mikroorganisme untuk mendegradasi polutan (Cunningham dan Philip, 2000). Ada beberapa hal yang harus diperhatikan dalam pemanfaatan teknologi bioremediasi supaya proses bioremediasi dapat berjalan dengan baik. Proses bioremediasi sebetulnya dapat terjadi secara alamiah di lingkungan, di mana mikroorganisme yang terdapat di suatu wilayah yang tercemar dapat mendegradasi senyawa polutan yang mencemari tersebut. Akan tetapi, proses biodegradasi oleh mikroba secara alami ini berlangsung cukup lama dan supaya proses bioremediasi pada media yang tercemar dapat berjalan dengan lebih cepat dan efektif, maka harus diciptakan suatu kondisi di mana mikroba dapat menguraikan polutan dengan lebih baik.

Peningkatan efektifitas bioremediasi ini perlu dilakukan agar pemulihan lingkungan dapat segera tercapai dan tidak menambah atau memperluas dampak pencemaran tersebut.

Terdapat dua pendekatan utama dalam bioremediasi tumpahan minyak (Zhu *et al.*, 2001) :

- *bioaugmentasi*, di mana mikroorganisme pengurai ditambahkan untuk melengkapi populasi mikroba yang telah ada, dan
- *biostimulasi*, di mana pertumbuhan pengurai hidrokarbon asli dirangsang dengan cara menambahkan nutrisi dan/atau mengubah habitat.

Pada dasarnya, mikroba membutuhkan kondisi yang sesuai supaya mereka dapat bertahan hidup dan dapat menguraikan senyawa hidrokarbon yang menjadi sumber karbon bagi mikroba. Selain sumber karbon, mikroba membutuhkan udara (untuk mikroba aerob), nutrisi lainnya, dan kondisi lingkungan seperti pH dan temperatur yang tepat. Oleh karena itu, agar proses bioremediasi dapat berjalan optimal perlu diciptakan kondisi yang dapat mendukung pertumbuhan mikroorganisme. Di lingkungan pantai, selain udara, nutrisi, dan temperatur, terdapat beberapa hal lain yang diperkirakan turut mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme dan proses bioremediasi yaitu pasang surut air laut. Pada saat kondisi pasang, suplai udara diperkirakan terhambat.

Berdasarkan kedua pendekatan di atas dan tujuan proses bioremediasi yaitu menciptakan kondisi yang tepat untuk pertumbuhan mikroorganisme pengurai, maka perumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a. Apakah pemberian nutrisi berpengaruh terhadap efektifitas mikroba pendegradasi?
- b. Apakah penambahan mikroba berpengaruh terhadap efektifitas proses bioremediasi?
- c. Apakah metode bioaugmentasi dapat mempercepat proses biodegradasi dibandingkan metode biostimulasi?
- d. Apakah kecepatan pemulihan pencemaran minyak di pantai dipengaruhi oleh pasang surut air laut?

1.3 Batasan Masalah

Penelitian bioremediasi tumpahan minyak di pantai dilakukan melalui simulasi sederhana skala laboratorium (5 kg pasir), dengan menggunakan pasir pantai serta penyesuaian dengan berbagai kondisi di lapangan untuk diterapkan di laboratorium. Penelitian ditekankan pada perbandingan antara metode biostimulasi di mana mikroba asli dirangsang pertumbuhannya dengan beberapa faktor pendukung dengan metode bioaugmentasi di mana dilakukan penambahan konsorsium mikroba untuk menambah jumlah mikroba yang ada.

Berdasarkan penjelasan yang telah disebutkan di atas, maka pembatasan masalah yang dapat dikemukakan dalam penelitian ini adalah :

- a. Pasir pantai dan air laut yang digunakan berasal dari pantai di Pulau Jawa, yaitu daerah Tanjung Pasir, Kabupaten Tangerang.
- b. Jenis bakteri yang digunakan adalah mikroba air tawar yang telah terbukti dapat mendegradasi cemaran minyak, yang dibiakkan dan dikondisikan dengan minyak dan air laut serta mikroba asli yang berasal dari air laut yang dibiakkan dan dikondisikan dengan penambahan minyak.
- c. Jenis nutrisi yang digunakan adalah *slow release fertilizer* dengan rasio C:N:P adalah 100:10:1
- d. Cemaran minyak di media pasir dilakukan dengan sengaja dengan kadar 5%.
- e. Diasumsikan pencemaran hanya di pasir pantai sehingga air pasang pada sampel yang terkena pasang surut merupakan *freshwater* yang tidak mengandung minyak. Periode pasang surut air laut menggunakan tipe pasang surut Teluk Jakarta yaitu tipe tunggal (Diposaptono, 2007) yaitu pasang surut yang hanya terjadi satu kali pasang dan satu kali surut dalam satu hari (Wyrтки, 1961).

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan spesifikasi masalah yang telah dikemukakan, maka tujuan penelitian ini adalah :

- a. Mengetahui pengaruh penambahan nutrisi terhadap keberhasilan proses bioremedasi di pantai tercemar minyak.
- b. Mengetahui pengaruh penambahan mikroba terhadap keberhasilan proses bioremedasi di pantai tercemar minyak.
- c. Mendapatkan hasil perbandingan efektifitas antara metode bioaugmentasi dengan biostimulasi.
- d. Mengetahui pengaruh pasang surut air laut terhadap proses bioremediasi.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat dan kegunaan sebagai berikut :

- a. Dapat diaplikasikan dalam proses pengolahan pantai yang tercemar minyak di lapangan terutama pada wilayah pantai di Indonesia.
- b. Diperoleh informasi tentang pemanfaatan bakteri pendegradasi minyak untuk pemulihan pantai tercemar minyak sehingga dapat menjadi bahan pertimbangan penelitian selanjutnya.
- c. Sebagai salah satu upaya pemulihan lingkungan hidup dari pencemaran khususnya pada wilayah pantai.

BAB 2

LANDASAN TEORI

2.1 Pengertian Wilayah Pesisir

Berdasarkan Undang-Undang No. 27 Tahun 2007 tentang Pengelolaan Wilayah Pesisir dan Pulau-Pulau Kecil, wilayah pesisir adalah daerah peralihan antara ekosistem darat dan laut yang dipengaruhi oleh perubahan di darat dan laut. Sedangkan perairan pesisir adalah laut yang berbatasan dengan daratan meliputi perairan sejauh 12 (dua belas) mil laut diukur dari garis pantai, perairan yang menghubungkan pantai dan pulau-pulau, estuari, teluk, perairan dangkal, rawa payau, dan laguna.

Wilayah pesisir merupakan daerah pertemuan antara darat dan laut; ke arah darat meliputi bagian daratan, baik kering maupun terendam air, yang masih dipengaruhi sifat-sifat laut seperti pasang surut, angin laut, dan perembesan air asin; sedangkan ke arah laut meliputi bagian laut yang masih dipengaruhi oleh proses-proses alami yang terjadi di darat seperti sedimentasi dan aliran air tawar, maupun yang disebabkan oleh kegiatan manusia di darat seperti penggundulan hutan dan pencemaran (Dahuri *et al.*, 1996).

Berdasarkan Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan Nomor : KEP.10/MEN/2002 tentang Pedoman Umum Perencanaan Pengelolaan Pesisir Terpadu, wilayah pesisir didefinisikan sebagai wilayah peralihan antara ekosistem darat dan laut yang saling berinteraksi, dimana ke arah laut 12 mil dari garis pantai untuk propinsi dan sepertiga dari wilayah laut itu (kewenangan propinsi) untuk kabupaten/kota dan ke arah darat batas administrasi kabupaten/kota.

Sedangkan oleh Bengen (2002), wilayah pesisir didefinisikan sebagai daerah pertemuan antara daratan dan laut, ke arah darat merupakan wilayah daratan yang masih dipengaruhi oleh fenomena lautan, seperti gelombang, pasang surut, angin laut, dan lain-lain; sedangkan ke arah laut merupakan wilayah laut yang masih dipengaruhi oleh aktivitas daratan seperti erosi, sedimentasi, dan lain-lain. Pada umumnya wilayah pesisir merupakan daerah yang rentan terhadap pencemaran akibat kesalahan

dalam pengelolaannya yang menjadikan kawasan ini sebagai tempat pembuangan segala macam limbah yang berasal dari daratan.

2.2 Pencemaran Lingkungan Laut dan Pesisir

Konvensi Hukum Laut III (*United Nations Convention on the Law of the Sea* = UNCLOS III) memberikan pengertian bahwa pencemaran laut adalah perubahan dalam lingkungan laut termasuk muara sungai (estuaries) yang menimbulkan akibat yang buruk sehingga dapat merugikan terhadap sumber daya laut hayati (*marine living resources*), bahaya terhadap kesehatan manusia, gangguan terhadap kegiatan di laut termasuk perikanan dan penggunaan laut secara wajar, memerosotkan kualitas air laut dan menurunkan mutu kegunaan dan manfaatnya (Misran, 2002).

Berdasarkan Undang-Undang No. 27 Tahun 2007 tentang Pengelolaan Wilayah Pesisir dan Pulau-Pulau Kecil, pencemaran pesisir adalah masuknya atau dimasukkannya makhluk hidup, zat, energi, dan/atau komponen lain ke dalam lingkungan pesisir akibat adanya kegiatan Orang sehingga kualitas pesisir turun sampai ke tingkat tertentu yang menyebabkan lingkungan pesisir tidak dapat berfungsi sesuai dengan peruntukannya. Bencana Pesisir adalah kejadian karena peristiwa alam atau karena perbuatan orang yang menimbulkan perubahan sifat fisik dan/atau hayati pesisir dan mengakibatkan korban jiwa, harta, dan/atau kerusakan di Wilayah Pesisir dan Pulau-Pulau Kecil.

Berdasarkan Peraturan Pemerintah No. 19 Tahun 1999 tentang Pengendalian Pencemaran dan/atau Perusakan Laut, pencemaran laut adalah masuknya atau dimasukkannya makhluk hidup, zat, energi, dan/atau komponen lain ke dalam lingkungan laut oleh kegiatan manusia sehingga kualitasnya turun sampai ke tingkat tertentu yang menyebabkan lingkungan laut tidak sesuai lagi dengan baku mutu dan/atau fungsinya.

Bahan-bahan pencemar yang dibuang ke laut dapat diklasifikasikan dalam berbagai cara. Misran (2002) menggolongkannya dari segi konservatif/non-konservatif :

- a. Golongan non-konservatif terbagi dalam tiga bentuk yaitu :
- Buangan yang dapat terurai (seperti sampah dan lumpur), buangan dari industri pengolahan makanan, proses distilasi (penyulingan), industri-industri kimia, dan tumpahan minyak;
 - Pupuk, umumnya dari industri pertanian;
 - Buangan dissipasi (berlebih), pada dasarnya adalah energi dalam bentuk panas dari buangan air pendingin, termasuk juga asam dan alkali.
- b. Golongan konservatif terbagi dalam dua bentuk yaitu :
- Partikulat, seperti buangan dari penambangan (misalnya : tumpahan dari tambang batubara, debu-debu halus), plastik-plastik inert;
 - Buangan yang terus-menerus (*persistent waste*) yang terbagi lagi dalam tiga bentuk : (I) Logam-logam berat (merkuri, timbal, zinkum);
(ii) Hidrokarbon terhalogenasi (DDT dan pestisida lain dari hidrokarbon terklorinasi, dan PCBs atau *polychlorinated biphenyl*); dan
(iii) Bahan-bahan radioaktif.

2.3 Pengertian dan Karakteristik Minyak

Petroleum merupakan campuran jenis komponen kimia hidrokarbon dalam bentuk gas, cair, dan padat yang muncul di batuan sedimen yang tertimbun di seluruh bumi. Petroleum dengan sebutan lainnya “*crude oil*” mencakup bermacam-macam material yang terdiri dari campuran hidrokarbon dan komponen lainnya yang mengandung sulfur, nitrogen, dan oksigen dalam kadar yang bervariasi dan volatilitas, *specific gravity*, dan viskositas yang beragam (Speight, 1991).

Crude oil dan produk petroleum merupakan campuran yang sangat kompleks dan bervariasi dari ribuan komponen individual yang memiliki beragam sifat fisik. Memahami komposisi ini penting untuk dapat mengetahui kelakuan tumpahan minyak dan pilihan respon yang sesuai (Zhu *et al.*, 2001).

Minyak mentah mengandung senyawa hidrokarbon sekitar 50–98 % dan selebihnya senyawa non-hidrokarbon (sulfur, nitrogen, oxygen, dan beberapa logam berat) dalam kesatuan kombinasi yang besar (Zhu *et al.*, 2001).

Minyak bersifat sangat hidrofobik dan merupakan senyawa kompleks aromatik terutama benzene, naftalen, penanthrene dan derivat aromatik yang tersubstitusi gugus alkyl, serta senyawa alifatik, asphal dan resin (Susilorukmi, 2005).

Speight (1991) menyatakan bahwa petroleum bukanlah material yang seragam. Faktanya, komposisi petroleum bermacam-macam tidak hanya bergantung dari lokasinya, tapi juga kedalaman dari pengeboran.

Secara umum, Speight (1991) menyebutkan komposisi dari petroleum adalah sebagai berikut :

Carbon, 83.0-87.0%

Hydrogen, 10.0-14.0%

Nitrogen, 0.1-2.0%

Oxygen, 0.05-1.5%

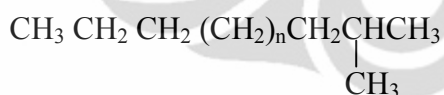
Sulfur, 0.005-6.0%

Speight (1991) juga membagi komponen hidrokarbon dalam minyak bumi menjadi tiga kelas, yaitu :

1. *Paraffins* : *Saturated hydrocarbons* dengan rantai lurus atau bercabang, namun tanpa struktur cincin :

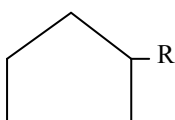


Straight-chain paraffin

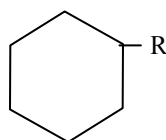


Branched-chain paraffin

2. *Naphthenes* : *Saturated hydrocarbons* yang memiliki satu atau lebih cincin, di mana masing-masing cincin memiliki satu atau lebih gugus rantai *paraffinic* (lebih dikenal sebagai *alicyclic hydrocarbons*) :

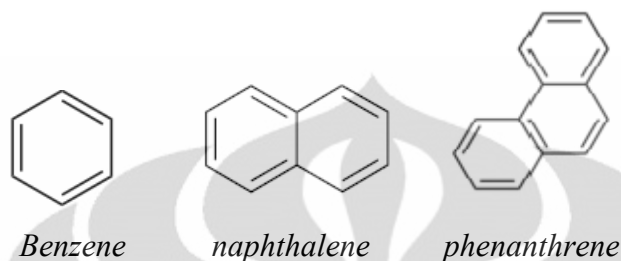


Alkylcyclopentane



alkylcyclohexane

3. *Aromatics* : Hidrokarbon yang mengandung satu atau lebih inti *aromatic*, seperti sistem cincin *benzene*, *naphthalene*, dan *phenanthrene*, yang dihubungkan dengan (disubstitusi) cincin naphthalene dan/atau gugus rantai *paraffinic* :



2.4 Limbah Minyak sebagai Limbah B3

PP No. 18 Tahun 1999 mendefinisikan limbah B3 adalah sisa suatu usaha dan/atau kegiatan yang mengandung bahan berbahaya dan/atau beracun, yang karena sifat dan/atau konsentrasinya, dan/jumlahnya baik secara langsung maupun tidak langsung, dapat mencemarkan dan/merusak lingkungan hidup, dan/atau dapat membahayakan lingkungan hidup, kesehatan, kelangsungan hidup manusia serta makhluk hidup lainnya berefek negatif bagi manusia dan lingkungan.

Limbah dikategorikan sebagai limbah berbahaya jika menunjukkan salah satu atau lebih dari empat karakteristik berikut (Dutta, 2002) :

a. Mudah Terbakar

Untuk memperjelasnya dengan mudah, limbah dianggap *ignitable* (dapat menyala) jika sampel yang representatif mampu—pada temperatur dan tekanan standar—terbakar akibat gesekan, penyerapan kelembaban atau perubahan bahan kimia secara mendadak dan pada saat terbakar, pembakaran sangat besar dan terus-menerus sehingga menyebabkan bahaya.

b. Korosif

Limbah dianggap dapat menunjukkan sifat korosif jika sampel yang representatif berbentuk cair di alam dan memiliki pH kurang dari atau sama dengan 2 atau lebih besar dari atau sama dengan 12,5 atau jika dapat merusak baja dengan

kecepatan melebihi 6,35 mm (0,250 inch) per tahun pada temperatur uji 55°C (130 °F) yang ditentukan dengan metode pengujian standar.

c. Reaktif

Karakteristik limbah reaktif dapat diperlihatkan jika sampel yang representatif dari limbah umumnya tidak stabil dan siap mengalami perubahan besar seperti bereaksi dengan kasar membentuk campuran yang dapat meledak jika dicampur dengan air atau sianida atau sulfida yang mendorong limbah terarah ke pH yang sangat rendah (2,0) atau tinggi (12,5) sehingga menimbulkan gas-gas beracun/asap dalam jumlah cukup untuk membahayakan kesehatan manusia atau lingkungan. Limbah juga dapat dikategorikan reaktif jika sampel yang representatif mampu meledak atau mampu mendekomposisi bahan peledak atau mampu bereaksi pada temperatur dan tekanan standar.

d. Beracun

Limbah memperlihatkan karakteristik beracun jika sampel yang representatif dari limbah mengandung kontaminan beracun pada konsentrasi yang cukup untuk mengancam kesehatan manusia atau lingkungan.

Berdasarkan PP 85 Tahun 1999 Tentang Pengelolaan Limbah Bahan Berbahaya dan Beracun, uji karakteristik limbah B3 meliputi :

1. Mudah meledak;
2. Mudah terbakar;
3. Bersifat reaktif;
4. Beracun;
5. Menyebabkan infeksi; dan
6. Bersifat korosif.
7. Pengujian toksikologi untuk menentukan sifat akut dan atau kronik.

KEPMENLH No. 128 Tahun 2003 tentang Tatacara dan Persyaratan Teknis Pengolahan Limbah Minyak Bumi dan Tanah Terkontaminasi oleh Minyak Bumi Secara Biologis mendefinisikan limbah minyak bumi sebagai sisa atau residu minyak yang terbentuk dari proses pengumpulan dan pengendapan kontaminan

minyak yang terdiri atas kontaminan yang sudah ada di dalam minyak, maupun kontaminan yang terkumpul dan terbentuk dalam penanganan suatu proses dan tidak dapat digunakan kembali dalam proses produksi. Dalam PP 85 Tahun 1999 Tentang Pengelolaan Limbah Bahan Berbahaya dan Beracun, limbah minyak tergolong ke dalam limbah B3.

Menurut Dutta (2002), bahan bakar merupakan salah satu sumber pencemar lahan yang sangat sering terjadi. Lahan yang terkontaminasi bahan bakar umumnya seperti lapangan pesawat terbang, ruang pembakaran, tempat pembuangan bahan kimia, sediment laut yang tercemar, sumur pembuangan dan tempat lindi, area pelatihan pemadam kebakaran, hangar/area perawatan pesawat terbang, lubang *landfill* dan pembuangan, kebocoran tangki penyimpanan, tempat pelarutan pelumas, *surface impoundments*, dan tempat perawatan mesin.

2.5 Sifat Minyak di Laut dan Pantai

Lasari (2010) menyatakan bahwa limbah lumpur minyak bumi berpengaruh pada ekosistem pesisir baik terumbu karang, mangrove maupun biota air, baik yang bersifat lethal (mematikan) maupun sublethal (menghambat pertumbuhan, reproduksi dan proses fisiologis lainnya).

Perubahan fisik dan kimia yang dialami oleh minyak yang tumpah ke laut dikenal sebagai '*weathering*'. Walaupun proses individu yang menyebabkan perubahan ini terjadi secara bersama-sama, namun relatif bervariasi terhadap waktu. ITOPE (2002) menyebutkan proses '*weathering*' sebagai berikut :

a. Menyebar

Seketika setelah minyak tumpah ke laut, minyak mulai menyebar di permukaan laut. Kecepatan penyebaran dipengaruhi oleh tingkat viskositas minyak dan volume tumpahan.

b. Menguap

Komponen minyak yang lebih mudah menguap akan ter-evaporasi ke atmosfer. Laju evaporasi dipengaruhi oleh temperatur ambien dan kecepatan angin. Umumnya, minyak dengan titik didih di bawah 200°C akan berevaporasi dalam waktu 24 jam pada kondisi temperatur sedang.

c. Dispersi

Gelombang dan turbulensi pada permukaan laut dapat menyebabkan seluruh bagian atau sebagian lapisan terpecah menjadi butiran dalam berbagai ukuran yang akan tercampur ke dalam lapisan teratas kolom air.

d. Disolusi

Laju dan perluasan di mana minyak terlarut bergantung pada komposisi, penyebaran, suhu air, turbulensi dan derajat dispersi. Komponen minyak mentah yang berat hampir tidak dapat larut dalam air, sedangkan komponen yang lebih ringan sedikit lebih mudah larut.

e. Emulsifikasi

Pada laut sedang sampai kasar, kebanyakan minyak akan mengambil butiran-butiran air dan membentuk emulsi air-dalam-minyak di bawah aktivitas turbulen gelombang pada permukaan laut.

f. Oksidasi

Hidrokarbon dapat bereaksi dengan oksigen yang dapat menyebabkan pembentukan produk yang mudah larut atau tar persisten.

g. Interaksi sedimen-minyak

Beberapa sisa minyak yang lebih berat memiliki *specific gravity* lebih besar dibandingkan air laut (lebih dari 1,025), menyebabkan minyak tersebut tenggelam ketika tumpah di laut.

h. Biodegradasi

Air laut mengandung sejumlah mikroorganisme laut yang memiliki kemampuan untuk memetabolisa komponen minyak seperti bakteri, jamur, alga uniselular dan protozoa yang dapat memanfaatkan minyak sebagai sumber karbon dan energi.

i. Kombinasi proses

Seluruh proses di atas terjadi sesaat setelah minyak terekspose ke laut, walaupun setiap kepentingan relatif terhadap waktu. *Spreading, evaporation, dispersion, emulsification*, dan *dissolution* merupakan yang terpenting pada tahap awal tumpahan sedangkan *oxidation, sedimentation*, dan *biodegradation* merupakan proses jangka panjang yang menentukan kondisi akhir minyak.

Sifat dari tumpahan minyak di kawasan garis pantai umumnya bergantung pada karakteristik pantai, seperti porositas substrat dan energi gelombang yang terjadi di pantai. Paparan gelombang yang kuat meningkatkan baik proses pembersihan fisik maupun iklim (Zhu *et al.*, 2001).

2.6 Mikroorganisme Pendegradasi Minyak

Proses bioremediasi bergantung pada aktivitas mikroorganisme pendegradasi. Degradasi material organik di lingkungan alami umumnya dilakukan oleh dua kelompok mikroorganisme : bakteri dan jamur. Bakteri mewakili beragam jenis organisme prokariotik yang banyak tersebar di biosfer. Bakteri dapat ditemukan di semua lingkungan di mana terdapat organisme yang hidup. Namun hal ini tidak berarti bahwa semua *strain* bakteri ada di seluruh alam (Baker dan Herson, 1994).

Baker dan Herson (1994) juga menyatakan bahwa bakteri berukuran kecil (umumnya antara 1 dan 10 μm) dan memiliki morfologi yang sederhana, tidak memiliki organ membran dalam tertutup yang biasanya dimiliki oleh organisme eukariotik seperti jamur, protozoa, alga, tanaman, dan hewan. Akan tetapi, secara biokimia bakteri menunjukkan metabolisme dengan beragam kegunaan. Bakteri memiliki beberapa karakteristik yang membuat mereka menjadi sekelompok organisme yang berhasil. Karakteristik tersebut—pertumbuhan dan metabolisme yang cepat, plastisitas genetik, dan kemampuan untuk menyesuaikan diri dengan cepat di lingkungan yang berbeda-beda—juga merupakan faktor-faktor yang membuat mikroorganisme sangat bermanfaat untuk bioremediasi.

Pada lingkungan yang telah lama tercemar serta kolam pengolahan limbah dimungkinkan terdapat bakteri pendegradasi minyak/lemak tersebut secara alamiah, bersaing maupun berkonsorsia dengan mikroorganisme lainnya (Suyasa, 2007).

Suyasa (2007) menyatakan bahwa pengendalian pencemaran dengan mikroba tengah berkembang dan berpotensi di masa mendatang karena teknologinya yang ramah lingkungan, antara lain melalui pengurangan penggunaan bahan kimia yang berpotensi menimbulkan pencemaran baru.

Mikroorganisme yang memiliki kemampuan untuk mendegradasi petroleum hidrokarbon dan komponen serupa lainnya banyak terdapat di habitat laut, air tawar, dan tanah. Lebih dari 200 spesies bakteri, ragi, dan jamur terbukti dapat mendegradasi hidrokarbon mulai dari metana sampai komponen dengan lebih dari 40 atom karbon. Pada lingkungan laut, bakteri dikenal sebagai pendegradasi hidrokarbon utama dengan jarak distribusi yang luas yaitu dapat mencakup lingkungan Antartika dan Artik yang sangat dingin (Zhu *et al*, 2001).

Lasari (2010) menyatakan bahwa bakteri yang mampu mendegradasi senyawa yang terdapat di dalam hidrokarbon minyak bumi disebut bakteri *hidrokarbonoklastik*. Bakteri ini mampu mendegradasi senyawa hidrokarbon dengan memanfaatkan senyawa tersebut sebagai sumber karbon dan energi yang diperlukan bagi pertumbuhannya. Bakteri yang tergolong ke dalam bakteri hidrokarbonoklastik diantaranya adalah *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Alcaligenes*, *Brevibacterium*, *Brevibacillus*, dan *Bacillus*. Bakteri-bakteri tersebut banyak tersebar di alam, termasuk dalam perairan atau sedimen yang tercemar oleh minyak bumi atau hidrokarbon. Kita dapat mengisolasi bakteri *hidrokarbonoklastik* tersebut dari alam dan mengkulturkannya, selanjutnya kita bisa menggunakannya sebagai pengurai limbah minyak bumi yang efektif dan efisien, serta ramah lingkungan.

Banyak penelitian saat ini diarahkan untuk mencari mikroba dari alam yang mempunyai kemampuan menarik dalam kaitannya dengan kinetika degradasi polutan, jangkauan senyawa-senyawa polutan yang dapat didegradasi, dan lingkungan yang tepat untuk aktivitas degradatif mikroba (Sunarko, 2001).

2.7 Bioremediasi

Dalam lampiran KEPMENLH No. 128 Tahun 2003 disebutkan bahwa pengolahan dengan metoda biologis merupakan salah satu alternatif teknologi pengelolaan limbah minyak bumi dengan memanfaatkan makhluk hidup khususnya mikroorganismae untuk menurunkan konsentrasi atau daya racun bahan pencemar.

Bioremediasi didefinisikan sebagai penggunaan mikroorganisme untuk mendegradasi polutan (Cunningham dan Philip, 2000).

Kebutuhan untuk meremediasi lahan tercemar membangkitkan pengembangan teknologi baru yang ditekankan pada detoksifikasi dan penghancuran kontaminan dibandingkan pendekatan konvensional yaitu pembuangan. Bioremediasi, penggunaan proses mikroorganisme atau mikroba untuk mendetox atau mendegradasi kontaminan di lingkungan, merupakan salah satu di antara teknologi baru tersebut. Walaupun bioremediasi dipandang sebagai teknologi yang baru, namun mikroorganisme telah digunakan secara rutin untuk pengolahan dan transformasi limbah paling tidak selama 100 tahun (Baker dan Herson, 1994).

Bioremediasi dalam hal ini adalah proses pengolahan limbah minyak bumi yang sudah lama atau tumpahan/ceceran minyak pada lahan terkontaminasi dengan memanfaatkan makhluk hidup termasuk mikroorganisme, tumbuhan atau organisme lain untuk mengurangi konsentrasi atau menghilangkan daya racun bahan pencemar (lampiran KEPMENLH No. 128 Tahun 2003).

Menurut Dutta (2002), bioremediasi adalah teknologi pengolahan yang menggunakan biodegradasi kontaminan organik melalui simulasi populasi mikroba asli dengan menyediakan beberapa faktor pendukung, seperti menambahkan oksigen, membatasi nutrisi, atau menambahkan spesies mikroba asing. Teknologi secara spesifik telah terbagi menjadi dua kategori besar yaitu : (1) Teknologi *Ex situ* (misalnya *slurry phase*, *land treatment*, *solid phase*, *composting*), dan (2) Teknologi *In situ*.

Pengolahan dengan metode biologis disebut juga bioremediasi, yaitu bioteknologi yang memanfaatkan makhluk hidup khususnya mikroorganisme untuk menurunkan konsentrasi atau daya racun bahan pencemar (KEPMENLH No. 128, 2003).

Dutta (2002) menyatakan bahwa berbagai jenis dari teknologi bioremediasi telah banyak digunakan untuk pengolahan tanah dan masih banyak lagi pendekatan-pendekatan inovatif yang tengah dikembangkan. Berdasarkan kesamaan dalam kemampuan transfer antar media, terdapat beberapa contoh teknologi dan proses bioremediasi :

- *Natural Attenuation*
- *Aerobic/Anaerobic biodegradation*
- *Biopiles*
- *Land Treatment*
- *Biodegradation*
- *Decontamination*
- *Composting*
- *Bioreactor*
- *Dehalogenation*
- *Bioventing*
- *Bioscrubbers*
- *Methanotrophic Process*
- *Plant Root Uptake*
(*Phytoremediation*)
- *Solid Phase Bioremediation*
- *Bio Wall for Plume*
- *Binding of Metals*
- *Fungi Inoculation Process*
- *Slurry Phase Bioremediation*
- *Bioremediation of Metals*

Dutta (2002) menjabarkan beberapa kunci utama dalam bioremediasi :

- a. Kebanyakan teknologi pengolahan bioremediasi menghancurkan kontaminan dalam struktur tanah.
- b. Teknologi pengolahan ini umumnya dirancang untuk mengurangi toksisitas baik dengan menghancurkan maupun mengubah kandungan zat beracun menjadi komponen dengan racun yang lebih rendah.
- c. Mikroorganisme asli, termasuk bakteri dan fungi, merupakan mikroorganisme yang paling banyak digunakan. Pada beberapa kasus, limbah dapat diinokulasi dengan bakteri khusus atau jamur yang diketahui dapat mendegradasi kontaminan yang dipermasalahkan. Tanaman juga dapat digunakan untuk meningkatkan biodegradasi dan stabilitas tanah.
- d. Penambahan nutrisi atau asektor elektron (seperti hidrogen peroksida atau ozon) untuk meningkatkan pertumbuhan dan reproduksi organisme asli mungkin dibutuhkan.
- e. Aplikasi bioremediasi di lapangan di antaranya :
 - Penggalian
 - Penanganan tanah
 - Penyimpanan lapisan tanah tercemar
 - Pencampuran tanah tercemar
 - Aerasi tanah tercemar
 - Injeksi fluida

- Ekstraksi fluida
- Pengenalan terhadap nutrisi dan substrat

Sasaran setiap upaya bioremediasi adalah untuk mengurangi potensi toksisitas kontaminan di lingkungan dengan memanfaatkan mikroba untuk mentransformasikan, mendegradasi, maupun imobilisasi toksikan. Dengan mengintegrasikan kemampuan degradatif mikroba dengan desain rekayasa, yang menciptakan lingkungan yang optimal untuk pertumbuhan, bioremediasi diharapkan akan dapat berhasil di lapangan (Sunarko, 2001).

2.8 Biostimulasi dan Bioaugmentasi

Zhu *et al* (2001) menyatakan bahwa terdapat dua pendekatan dalam bioremediasi.

1) *bioaugmentation*, di mana mikroorganisme pendegradasi minyak ditambahkan untuk menambahkan populasi mikroba yang telah ada, dan 2) *biostimulation*, di mana pertumbuhan pendegradasi minyak asli distimulasi dengan penambahan nutrisi atau *cosubstrates* pembatas-pertumbuhan lainnya dan/atau perubahan habitat.

Dalam kebanyakan kasus, pengolahan lingkungan yang tercemar minyak memanfaatkan biostimulasi – penambahan nutrisi untuk menstimulasi populasi mikroba asli. Selain itu, terdapat pendekatan lainnya yaitu bioaugmentasi, yaitu penambahan kultur kering atau basah mikroorganisme asli dan eksogen untuk mempercepat proses remediasi (Cunningham dan Philip, 2000).

Biostimulasi melibatkan penambahan nutrisi yang terbatas untuk mempercepat proses biodegradasi. Pada kebanyakan ekosistem garis pantai yang telah terkontaminasi hidrokarbon cukup berat, keberadaan nutrisi menjadi faktor pembatas dalam proses biodegradasi minyak. Kebanyakan eksperimen laboratorium yang telah dilakukan menunjukkan bahwa penambahan nutrisi, yakni nitrogen dan fosfor, dapat meningkatkan laju biodegradasi. Akan tetapi, jenis dan konsentrasi nutrisi optimal bervariasi bergantung pada komposisi minyak dan kondisi lingkungan (Zhu *et al.*, 2001).

Walaupun mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon tersebar luas di alam, bioaugmentasi dianggap sebagai strategi untuk mempercepat proses bioremediasi minyak sejak tahun 1970-an. Alasan untuk menambahkan mikroorganisme pendegradasi minyak adalah bahwa populasi mikroba asli mungkin tidak mampu menurunkan berbagai substrat atau senyawa dalam campuran kompleks seperti minyak bumi (Zhu *et al.*, 2001).

2.9 Faktor Pembatas Bioremediasi

Sunarko (2001) menyatakan bahwa berbagai solat dan konsorsium mikroba mampu mentransformasikan atau mendegradasi berbagai macam polutan lingkungan. Namun seringkali proses tersebut berlangsung terlalu lama untuk menurunkan konsentrasi kontaminan secara signifikan, akibat adanya batasan biologis, kimiawi maupun fisik. Tanpa memperhatikan karakter teknologi pengolahan dengan terperinci, seluruh teknik bioremediasi memerlukan mikroorganisme yang tepat di lokasi yang tepat dengan kondisi lingkungan yang tepat agar biodegradasi dapat terjadi dengan baik (Baker dan Herson, 1994).

Proses penguraian senyawa-senyawa pencemar oleh bakteri (mikroba) dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti jumlah nutrien, kecukupan oksigen, serta faktor-faktor lain seperti suhu, pH dan lingkungan (matrik tumbuh) (Suyasa, 2007)

a. Nutrisi

Saat tumpahan minyak yang cukup besar terjadi di pantai atau lingkungan perairan, suplai karbon meningkat secara dramatis dan keberadaan nitrogen dan fosfor berada pada batas minimum untuk degradasi minyak (Atlas, 1984; Leahy dan Colwell, 1990 *dalam* Zhu *et al.*, 2001). Dalam lingkungan pantai, keterbatasan nutrisi umumnya terkait dengan kandungan dasar nitrogen dan fosfor yang rendah pada air laut (Floodgate, 1984 *dalam* Zhu *et al.*, 2001). Ward dan Brock (1976) *dalam* Zhu *et al.* (2001) menemukan bahwa pada sungai yang terkontaminasi minyak, biodegradasi minyak berada pada laju tertinggi selama awal musim semi di mana kandungan nutrisi (seperti N dan P) juga meningkat. Saat N dan P menurun di musim panas (kemungkinan disebabkan oleh produktivitas alga) biodegradasi minyak juga menurun.

Banyak percobaan telah dilakukan untuk merancang sistem pelepasan nutrisi dalam mengatasi permasalahan karakteristik nutrisi yang hanyut pada lingkungan perairan. Penggunaan *slow release fertilizer* merupakan salah satu pendekatan yang digunakan untuk dapat menyediakan sumber nutrisi secara terus-menerus di lahan terkontaminasi minyak. *Slow release fertilizer* umumnya dalam bentuk padat yang mengandung nutrisi anorganik dilapisi oleh material *hydrophobic* seperti parafin atau minyak sayur. Cara ini juga dapat mengurangi biaya dibandingkan menggunakan *water-soluble nutrient* karena frekuensi penggunaannya yang lebih jarang (Zhu *et al.*, 2001).

Zhu *et al.* (2001) menyatakan bahwa *slow release fertilizer* telah memberikan harapan terhadap studi dan aplikasi bioremediasi. Contohnya, Olivieri *et al.*, (1976 dalam Zhu *et al.*, 2001) menemukan, bahwa biodegradasi *crude oil* meningkat tajam dengan penambahan parafin yang dilapisi $MgNH_4PO_4$. *Slow release fertilizer* lainnya, *Customblen* (minyak sayur yang dilapisi kalsium fosfat, amonium fosfat, dan amonium nitrat), menunjukkan hasil yang baik di beberapa garis pantai Prince Willian Sound, terutama pada kombinasi dengan *oleophilic fertilizer* juga menunjukkan bahwa laju biodegradasi meningkat dengan penambahan *slow release fertilizer (sulfur-coated urea)* dibandingkan dengan *water-soluble fertilizer*.

b. Oksigen

Umumnya, oksigen tidak menjadi faktor pembatas pada sebagian besar pantai pasir. Namun, keterbatasan oksigen dapat terjadi di tanah basah dan garis pantai berserat halus seperti yang terjadi pada beberapa studi kasus (Garcia-Blanco *et al.*, 2001; Lee & Levy, 1991; Purandare, 1999 dalam Zhu *et al.*, 2001). Pada beberapa keadaan, penambahan oksigen dapat dipertimbangkan sebagai strategi bioremediasi. Walaupun suplai oksigen telah banyak digunakan secara luas untuk bioremediasi tanah dan air tanah terkontaminasi minyak, seperti di bawah permukaan lahan terkontaminasi bahan bakar, strategi ini belum diaplikasikan untuk meningkatkan biodegradasi minyak di garis pantai laut dan lahan basah air tawar. Hal ini disebabkan karena penambahan oksigen biasanya membutuhkan

biaya pengoperasian yang mahal dan dapat membahayakan lingkungan (Zhu *et al.*, 2001).

Keberhasilan bioremediasi di lingkungan laut membutuhkan kondisi di mana air yang mengandung nutrisi harus dapat kontak dengan minyak. Minyak yang terpisah (terkubur di bawah lapisan sedimen yang menghalangi aliran air) memiliki kemungkinan tidak terkena nutrisi. Pada kasus ini, sebagaimana pada kondisi oksigen terbatas, dapat dilakukan *tilling*, namun hal ini menimbulkan persoalan tentang gangguan fisik lingkungan yang dapat menyebabkan kerusakan lingkungan yang lebih besar dibandingkan dengan keuntungan yang didapat (Atlas dan Bragg, 2009).

c. pH

pH air laut umumnya stabil dan bersifat alkali. Kebanyakan bakteri dan jamur heterotrof menyukai pH netral, dengan jamur lebih toleran terhadap kondisi asam. Biodegradasi minyak dapat terhambat akibat penurunan pH secara dramatis (Zhu *et al.*, 2001).

Baker dan Herson (1994) menyatakan bahwa dengan pengecualian terhadap organisme *acidophilic* seperti *Thiobacillus ferrooxidans*, yang ditemukan pada sumber perairan asam, mikroorganisme umumnya dibatasi oleh nilai pH antara 6.0 sampai 8.0. Dibble dan Bartha (1979 dalam Baker dan Herson, 1994) melaporkan bahwa pH 7.8 merupakan pH optimal bagi mikroba untuk mendegradasi hidrokarbon minyak di tanah. Sedangkan menurut Department of Energy and the Petroleum Environmental U.S. (2002), *range* pH yang baik untuk bakteri adalah 6.5 – 8.5 dan pH optimal untuk biodegradasi berkisar antara 6.0 – 8.5.

d. Temperatur

Proses biologis umumnya meningkat seiring dengan meningkatnya temperatur sampai temperatur maksimal di mana terjadi denaturasi enzim yang akan menghambat dan mematikan sel. Biasanya, reaksi terhadap suhu oleh mikroorganisme ditunjukkan dengan pola asimetris yang jelas, dengan aktivitas maksimal pada suhu tepat di bawah suhu letal. Mikroorganisme diklasifikasikan ke dalam golongan *psychrophiles* (suhu optimal antara 5 dan 15°C), *mesophiles*

(suhu optimal antara 25 dan 40°C), atau *thermophiles* (suhu optimal antara 40 dan 60°C) (Baker dan Herson, 1994).

Walaupun sebagian besar proyek bioremediasi dilaksanakan pada kondisi mesofil, kemampuan untuk mendegradasi kontaminan juga ditemukan pada mikroorganisme *psychrophilic* (Parr *et al*, 1983; ZoBell & Agosti, 1972 *dalam* Baker dan Herson, 1994), *mesophilic* (Atlas, 1988 *dalam* Baker & Herson, 1994), dan *thermophilic* (Merkel *et al*, 1978; Woodward, 1990 *dalam* Baker & Herson, 1994). Contohnya, *strain Corynebacterium* yang diisolasi dari tanah terkontaminasi minyak di Antartika menunjukkan kemampuan untuk mendegradasi hidrokarbon pada suhu 1°C (Kerry, 1990 *dalam* Baker & Herson, 1994). Di sisi lain, William *et al* (1988) pernah mendemonstrasikan mikroorganisme *thermophilic* dapat mendegradasi bahan peledak pada sistem operasi tanah kompos pada suhu 55°C (Baker dan Herson, 1994).

Laju degradasi tertinggi biasanya terjadi pada suhu antara 30 sampai 40°C pada lingkungan tanah, 20 sampai 30°C pada beberapa lingkungan perairan, dan 15 sampai 20°C pada lingkungan pantai (Bossert dan Bartha, 1984; Cooney, 1984; Jordan dan Payne, 1980 *dalam* Zhu, 2001).

e. Kadar Air

Baker dan Herson (1994) menyatakan bahwa bakteri seperti sel yang bergantung pada suplai air yang cukup untuk dapat tumbuh dan bereproduksi. Lebih penting dari jumlah mutlak air yang terdapat di lingkungan adalah ketersediaan air. Menurut Department of Energy and the Petroleum Environmental U.S (2002), kadar air yang baik adalah antara 50-80% dari *water holding capacity*. Menurut Fermiani (2003), kondisi optimum untuk pertumbuhan mikroorganisme berkisar antara 10% - 25%.

f. Salinitas

Salinitas di lingkungan dapat menjadi faktor penting dalam bioremediasi minyak, terutama pada lingkungan *estuarine* atau garis pantai di mana terdapat aliran air bawah tanah yang menuju ke laut (Zhu *et al.*, 2001).

2.10 *Total Petroleum Hydrocarbons (TPH)*

Total petroleum hydrocarbons (TPH) adalah istilah yang digunakan untuk menggambarkan ratusan bahan kimia yang secara alami muncul dari *crude oil*. *Crude oil* digunakan untuk membuat produk petroleum, yang dapat mengkontaminasi lingkungan. Dikarenakan begitu banyaknya bahan kimia yang berbeda-beda dalam *crude oil* dan produk petroleum lainnya, tidak dilakukan pengukuran masing-masing kandungan secara terpisah. Oleh karena itu, pengukuran yang dilakukan di lapangan adalah jumlah TPH (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1999).

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (1999) juga menyatakan bahwa TPH adalah campuran bahan kimia, namun sebagian besarnya berasal dari hidrogen dan karbon, sehingga disebut hidrokarbon. Para ilmuwan membagi TPH ke dalam kelompok petroleum hidrokarbon yang serupa pada tanah atau air. Kelompok ini dinamakan *petroleum hydrocarbon fractions*. Setiap fraksi mengandung banyak bahan kimia. Beberapa kandungan bahan kimia yang terdapat di TPH adalah *hexane, jet fuels, mineral oils, benzene, toluene, xylenes, naphthalene*, dan *florene*, seperti halnya kandungan produk petroleum dan bensin lainnya. Sampel PTH dapat mengandung sebagian atau campuran dari bahan-bahan kimia tersebut.

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian bioremediasi cemaran minyak di pantai dengan simulasi skala 10 liter akan dilakukan di Laboratorium Proses Balai Teknologi Lingkungan BPPT, Kawasan Puspiptek, Serpong. Analisis kandungan TPH, pH, dan porositas akan dilakukan di Laboratorium Proses Balai Teknologi Lingkungan BPPT.

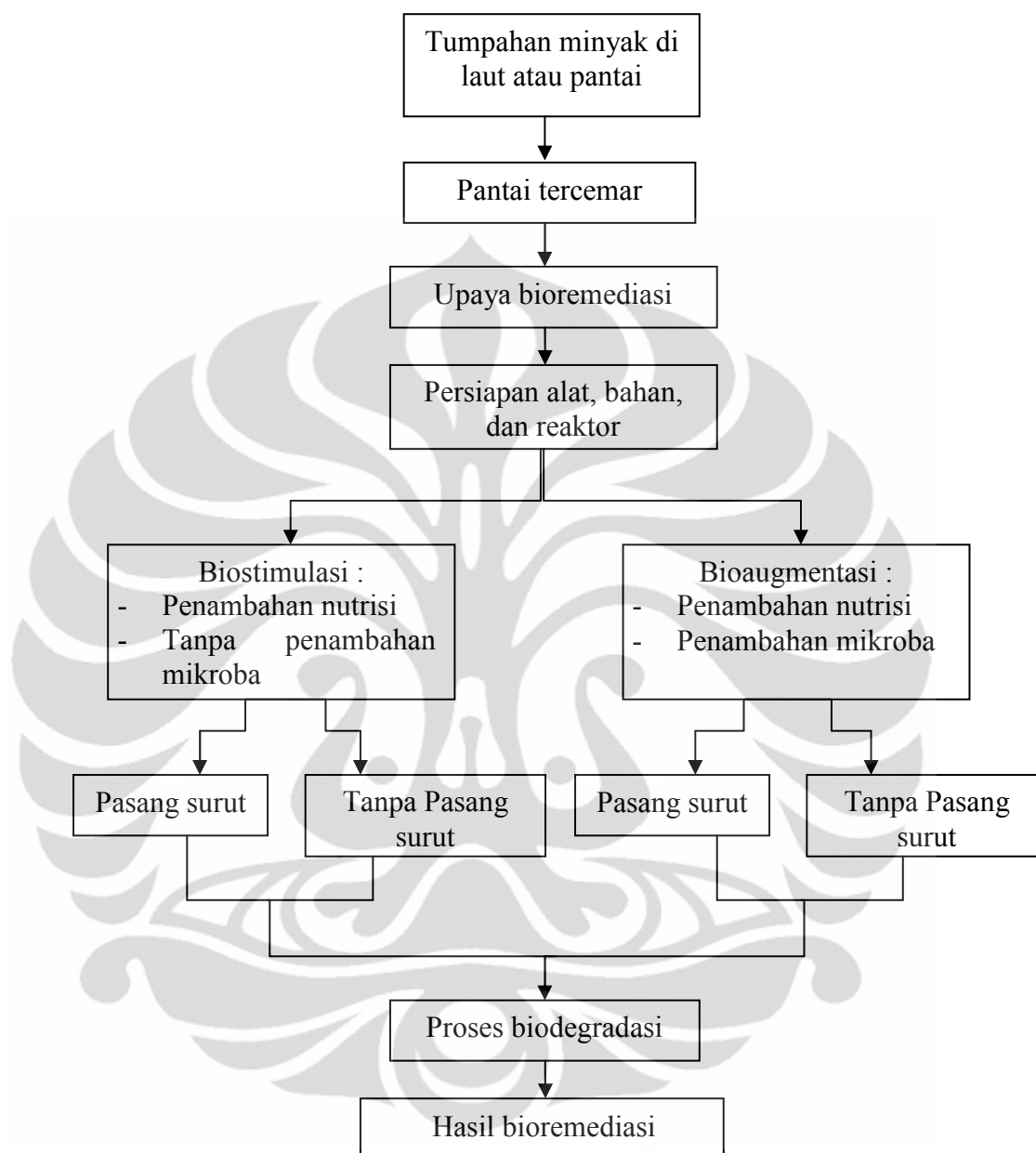
Sampel pasir pantai dan air laut diambil dari daerah Tanjung Pasir, pantai Kabupaten Tangerang. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Januari sampai dengan Februari 2011. Konsorsium mikroba pendegradasi minyak diperoleh dari Laboratorium Proses Balai Teknologi Lingkungan BPPT. Berikut adalah jadwal penelitian bioremediasi cemaran minyak di pantai.

Tabel 3. 1 Jadwal Pelaksanaan Penelitian

Kegiatan	Okt	Nov	Des	Jan	Feb	Maret	April	Mei
Studi Literatur								
Penelitian laboratorium								
Analisis data penelitian								

Sumber : Pengolahan Penulis

3.2 Kerangka Berpikir



Gambar 3.1 Kerangka Berpikir Penelitian Bioremediasi Pantai Tercemar Minyak

3.3 Teknik Penelitian

Teknik penelitian yang dilakukan pada penelitian bioremediasi pantai tercemar minyak ini adalah :

1. Studi literatur, mendasari penelitian dengan teori-teori dasar mengenai bioremediasi, biodegradasi, pencemaran minyak di pantai, dan hal-hal yang

berhubungan dengan penelitian sehingga dapat menjadi acuan selama melakukan kegiatan eksperimen dan analisis hasil penelitian.

2. Eksperimen, melakukan penelitian di laboratorium yaitu membuat simulasi proses bioremediasi pasir pantai tercemar minyak dengan memberikan perlakuan tertentu untuk mencapai kejadian yang dapat menunjukkan reaksi atas masalah yang telah dirumuskan.
3. Interview, wawancara yang dilakukan kepada staf ahli dari Balai Teknologi Lingkungan-BPPT untuk mengetahui teori, prosedur, penyiapan bahan, pemantauan, dan hal-hal lain yang berhubungan dengan proses eksperimen.
4. Pengukuran, melakukan pengukuran di laboratorium untuk mengetahui data-data dari kegiatan eksperimen, seperti temperatur, TPH, pH, dan porositas.

3.4 Pendekatan Penelitian

Penelitian adalah suatu proses penyelidikan secara sistematis yang ditujukan pada penyediaan informasi untuk menyelesaikan masalah-masalah (Cooper & Emory, 1995) atau usaha yang secara sadar diarahkan untuk mengetahui atau mempelajari fakta-fakta baru dan juga sebagai penyaluran hasrat ingin tahu manusia (Suparmoko, 1991).

Menurut caranya, jenis penelitian dibagi menjadi (Marzuki, 1999) :

1. Penelitian Operasional
Penelitian yang dilakukan oleh seseorang yang bekerja pada suatu bidang tertentu terhadap proses kegiatannya yang sedang berlangsung tanpa mengubah sistem pelaksanaannya.
2. Penelitian Tindakan
Penelitian yang dilakukan oleh seseorang yang bekerja pada suatu bidang tertentu terhadap proses kegiatannya yang sedang berlangsung dengan cara memberikan tindakan/action tertentu dan diamati terus menerus dilihat plus-minusnya, kemudian diadakan perubahan terkontrol sampai pada upaya maksimal dalam bentuk tindakan yang paling tepat.

3. Penelitian Eksperimen (dari caranya)

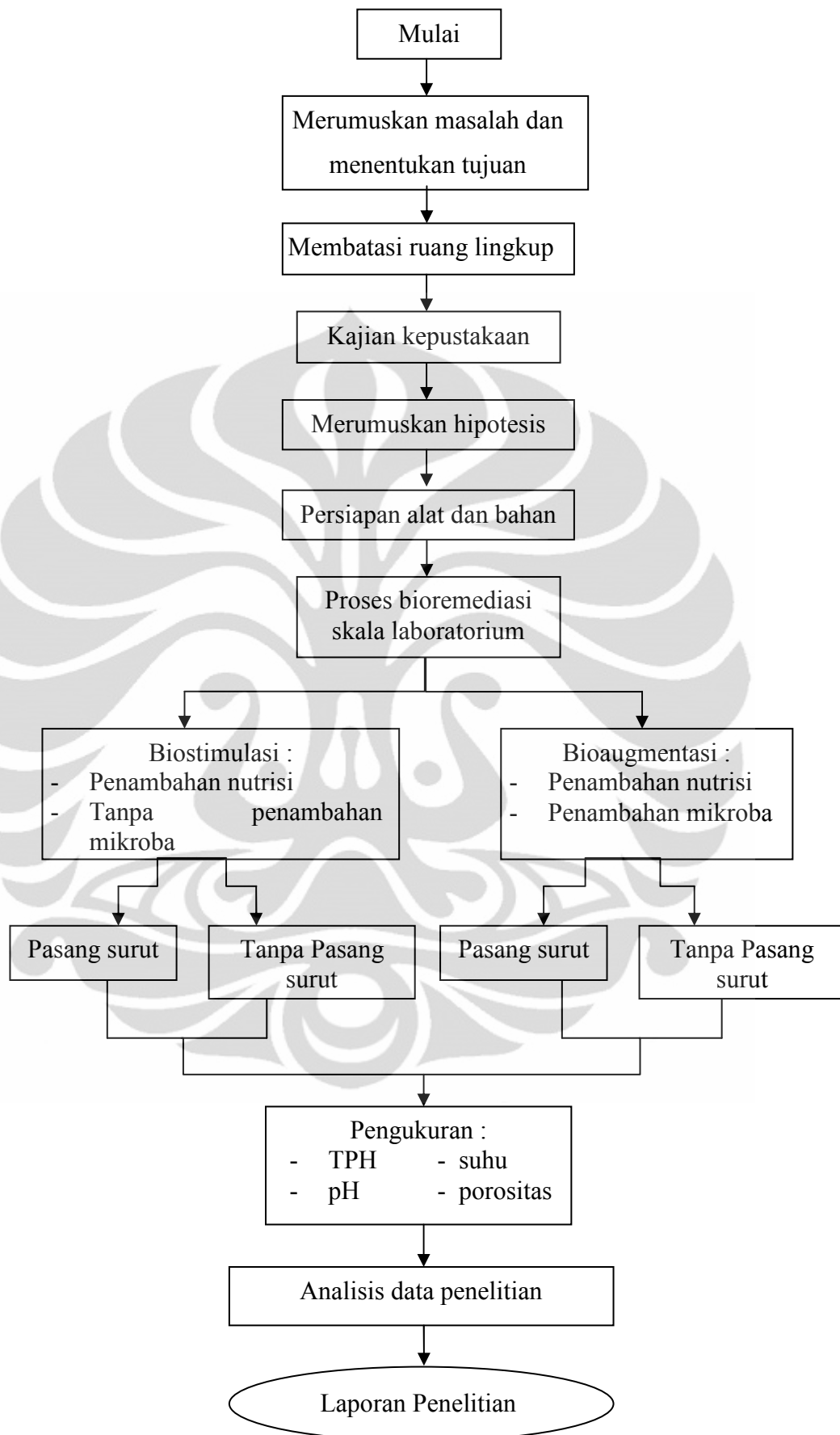
Penelitian yang dilakukan secara sengaja oleh peneliti dengan cara memberikan treatment/perlakuan tertentu terhadap subjek penelitian guna membangkitkan sesuatu kejadian/keadaan yang akan diteliti bagaimana akibatnya.

Penelitian ini merupakan penelitian kausal (sebab akibat) yang pembuktiannya diperoleh melalui komparasi/perbandingan antara :

- a. Kelompok eksperimen (diberi perlakuan) dengan kelompok kontrol (tanpa perlakuan); atau ;
- b. Kondisi subjek sebelum perlakuan dengan sesudah diberi perlakuan.

Metode penelitian yang dilakukan adalah metode penelitian eksperimen. Penelitian ini dilakukan di laboratorium dengan membuat suatu kondisi di mana proses biodegradasi oleh mikroba dapat berlangsung sehingga dapat menunjukkan jawaban atas masalah dan hipotesa yang telah dirumuskan dengan analisa lebih lanjut. Hasil dari eksperimen ini dibuktikan dengan membandingkan kedua kelompok eksperimen yaitu metode bioaugmentasi dan biostimulasi dengan kelompok tanpa perlakuan yaitu blanko yang dijadikan sebagai acuan dan juga antara bioaugmentasi dengan bostimulasi. Selain membandingkan antara metode biostimulasi dan bioaugmentasi, pada penelitian ini juga dilakukan perbandingan antara pasir yang mengalami pasang surut dan pasir yang tidak mengalami pasang surut. Dengan demikian dapat diketahui bagaimana pengaruh dari adanya gelombang pasang surut di pantai terhadap proses bioremediasi.

Pendekatan penelitian yang dilakukan bermula dari perumusan masalah dan tujuan dilanjutkan dengan pembatasan masalah. Setelah permasalahan dirumuskan dan dibatasi, dilakukan studi literatur untuk mendapatkan kajian dan dasar teori yang selanjutnya akan dijadikan sebagai pedoman penelitian. Berdasarkan dasar teori yang telah didapat, dirumuskan hipotesis penelitian. Selanjutnya, barulah dilaksanakan proses penelitian bioremediasi cemaran minyak di pantai skala laboratorium dengan membandingkan antara metode biostimulasi dan bioaugmentasi.



Gambar 3.2 Diagram Alir Prosedur Penelitian Bioremediasi

Dari kedua metode dilakukan pengujian kadar TPH, pH, suhu dan porositas. Pengujian kadar TPH dilakukan dengan metode yang mengacu pada EPA 1996 Metode 3540C Soxhlet Extraction (Revision 3). pH dan suhu diamati sesuai kondisi optimal bagi proses biodegradasi oleh mikroba yaitu pH 6-8,5 dan suhu 10-40°C. Setelah kegiatan penelitian selesai, dilakukan analisis atas data yang telah diperoleh untuk mendapatkan kesimpulan dalam laporan penelitian atau skripsi. Diagram alir penelitian ditunjukkan pada Gambar 3.2.

3.5 Metode Penelitian

Metode penelitian yang dilakukan adalah metode eksperimen dengan membandingkan metode biostimulasi dengan metode bioaugmentasi pada kondisi pantai terkena arus pasang surut dan tidak terkena pasang surut. Penelitian ini dilakukan di Balai Teknologi Lingkungan BPPT, kawasan PUSPIPTEK, Serpong, Banten. Eksperimen dilakukan dengan membuat simulasi pantai skala 5 liter dalam kolam beton berukuran panjang 24 cm, lebar 23,5 cm, dan tinggi 34 cm. Kotak tersebut diisi dengan pasir sebanyak 5 kg yang diambil dari kawasan Tanjung Pasir, pantai Kabupaten Tangerang. Di pasir tersebut dicampurkan minyak sebanyak 5% sebagai kandungan pencemar minyak awal dalam pasir pantai.

Pada penelitian ini digunakan 12 buah reaktor yang berisi sampel pasir untuk percobaan. Untuk perlakuan dengan penambahan nutrisi, rasio nutrisi yang diberikan adalah C:N:P = 100:10:1. Pengukuran yang dilakukan adalah :

1. Porositas, dilakukan di awal penelitian.
2. Temperatur, dilakukan setiap hari.
3. pH, dilakukan setiap minggu.
4. TPH, dilakukan setiap minggu.
5. Kadar air dilakukan di awal dan akhir penelitian

3.6 Variabel Penelitian

Menurut Marzuki (1999), variabel adalah hal-hal yang menjadi objek penelitian yang nilainya belum spesifik (bervariasi). Pada penelitian eksperimen, penelitian

yang dilakukan terhadap variabel yang data-datanya belum ada sehingga perlu dilakukan proses manipulasi melalui perlakuan tertentu terhadap subjek penelitian yang kemudian diamati atau diukur dampaknya (data yang akan datang). Penelitian ini berdasarkan perbandingan *biostimulasi* dengan *bioaugmentasi* serta pasir dengan pasang surut terhadap pasir tanpa pasang surut.

- | | |
|---|--|
| 1. <i>Blanko</i> → Tanpa nutrisi
Tanpa mikroba | } Pasang surut dan
tanpa pasang surut |
| 2. <i>Biostimulasi</i> → Penambahan nutrisi
Tanpa penambahan mikroba | |
| 3. <i>Bioaugmentasi</i> → Penambahan nutrisi
Penambahan mikroba | |

Variabel yang dapat ditentukan dalam penelitian ini adalah :

- a. Variabel bebas, yaitu :
Perlakuan tanpa nutrisi (A_1), tanpa bakteri (B_1), penambahan nutrisi (A_2), dan penambahan bakteri (B_2).
- b. Variabel terikat, yaitu :
Pasir terkontaminasi minyak (K_1), pH, dan suhu.

Maka, kombinasi perlakuan adalah sebagai berikut :

$K_1A_1B_1$ = Pasir terkontaminasi minyak, tanpa penambahan nutrisi, dan tanpa penambahan bakteri

$K_1A_2B_1$ = Pasir terkontaminasi minyak, dengan penambahan nutrisi dan tanpa penambahan bakteri

$K_1A_2B_2$ = Pasir terkontaminasi minyak, dengan penambahan nutrisi, dan dengan penambahan bakteri

Berikut merupakan tabel kombinasi pemberian perlakuan untuk masing-masing metode beserta blanko.

Tabel 3. 2 Kombinasi Perlakuan pada Setiap Metode

Metode	Penambahan nutrisi	Penambahan mikroba	Keterangan
Blanko	-	-	Pasang surut
Biostimulasi	√	-	
Bioaugmentasi	√	√	
Blanko	-	-	Tanpa pasang surut
Biostimulasi	√	-	
Bioaugmentasi	√	√	

Sumber : Pengolahan Penulis

3.7 Persiapan Sampel dan Reaktor

Sebelum penelitian bioremediasi yang memiliki metode eksperimen ini dimulai, dilakukan persiapan sampel dan reaktor pasir tercemar minyak. Persiapan sampel untuk penelitian ini dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut. Langkah pertama adalah menimbang pasir. Pasir yang digunakan berasal dari kawasan pantai utara Jakarta sebanyak 5 kg untuk setiap rektor di mana terdapat 12 reaktor yang terdiri dari 6 rencana perlakuan dan masing-masing dilakukan dua kali pengulangan (*duplo*).

Selanjutnya, pada pasir tersebut ditambahkan minyak bumi mentah atau *crude oil* sebanyak 5% pada setiap 5 kg pasir, sehingga minyak yang digunakan adalah 0,25 kg untuk setiap rektor. Minyak yang digunakan berasal dari kawasan Riau. Supaya pencampuran minyak merata dan homogen, setelah dicampur secara manual dengan menggunakan sekop, campuran pasir dan minyak tersebut dilakukan proses pengadukan (*mixing*).

Setelah dilakukan pencampuran, 4 reaktor sampel untuk metode biostimulasi dan 4 reaktor sampel untuk metode bioaugmentasi ditambahkan nutrisi dengan perbandingan kadar C:N:P 100:10:1. Pupuk yang digunakan adalah *slow release fertilizer* yang terdiri dari SRF Urea sebagai sumber nitrogen dan NPK 26-6-10 sebagai sumber nitrogen dan fosfor.

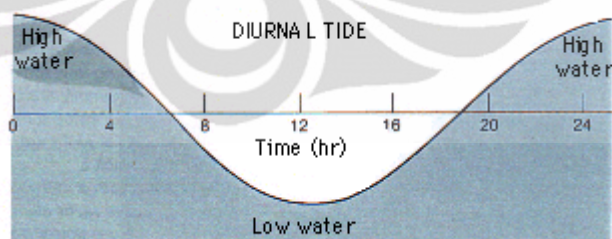
Untuk metode bioaugmentasi, 4 reaktor sampel selain ditambahkan pupuk juga ditambahkan konsorsium mikroba sebanyak 500 ml mikroba asli dan 500 ml mikroba air tawar biakan untuk masing-masing reaktor. Sedangkan untuk blanko sebagai acuan, 4 reaktor sampel hanya diberikan minyak sebanyak 5% tanpa penambahan nutrisi maupun mikroba.

Setelah seluruh campuran siap, maka sampel dimasukkan ke dalam reaktor yang terbuat dari kaca berukuran panjang 24 cm, lebar 23,5 cm, dan tinggi 34 cm dengan keran yang dilapisi kasa di sisi bawahnya untuk mengeluarkan air pasang surut.

3.8 Simulasi Pasang Surut

Untuk mengetahui pengaruh pasang surut terhadap proses biodegradasi kontaminan di pantai, dilakukan pula Periode pasang surut disesuaikan dengan kondisi pasang surut Teluk Jakarta yaitu pasang surut harian tunggal (Diposaptono, 2007) di mana proses pasang surut hanya terjadi satu kali pasang dan satu kali surut dalam satu hari (Wyrcki, 1961).

6 buah reaktor diberikan perlakuan mengalami pasang surut berjenis diurnal di mana terjadi satu kali pasang dan satu kali surut dalam satu hari dengan lama waktu pasang dan surut masing-masing 12 jam.



Gambar 3. 3 Periode Pasang Surut Tipe Diurnal

Sumber : <http://www.marine.tmd.go.th>

Simulasi pasang surut ini dilakukan dengan cara menuangkan air laut pada ke 6 buah reaktor secara manual di mana pada saat pasang yaitu pukul 7 pagi, air laut dituangkan ke dalam bak berisi pasir sampai pasir terbenam dan pada saat surut air dikeluarkan melalui katup di bagian bawah bak yang dilapisi dengan saringan

agar pasir tidak ikut keluar. Pada pukul 7 malam air laut dikeluarkan dengan membuka keran sampai air laut pada reaktor habis. Air laut yang digunakan untuk efek pasang pada setiap reaktor adalah ± 2 liter. Kegiatan ini dilakukan setiap hari.

Variasi perlakuan pasir yang mengalami pasang surut dengan pasir yang tidak mengalami pasang surut adalah untuk melihat bagaimana pengaruh adanya peristiwa pasang surut pada suatu wilayah pantai dibandingkan dengan wilayah pantai yang tidak terkena gelombang pasang surut.

3.9 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan untuk analisis TPH adalah *Soxhlet extractor*, *Drying column*, Kuderna-Danish (K-D) *apparatus*, *Solvent vapor recovery system*, *Boiling chips - Solvent-extracted*, *Water bath*, *Vials*, *glass* atau *paper thimble* atau *glass wool*, *Heating mantle*, *glass pasteur pipet* dan *bulb*, *drying oven*, desikator, *Crucibles*, *Analytical balance*, dan labu destilasi. Bahan yang dibutuhkan untuk analisis TPH adalah sampel sedimen, *extraction solvent* (heksana dan aseton), dan natrium sulfat.

Alat yang digunakan untuk pengukuran pH adalah neraca analitik, botol kocok 100 ml, dispenser 50 ml gelas ukur -1, mesin pengocok, labu semprot 500 ml, dan pH meter. Bahan untuk pereaksi adalah air bebas ion, larutan buffer pH 7,0 dan pH 4,0, KCl 1 M. Larutkan 74,5 g KCl p.a.(pro analisis) dengan air bebas ion hingga 1 liter.

Untuk pengukuran porositas, alat yang digunakan adalah 2 *glass beaker* 1000 ml dan bahan yang digunakan adalah pasir dan air sebanyak 500 ml.

Alat dan bahan yang digunakan untuk pemurnian isolat, identifikasi mikroba, enumerasi mikroba, dan pewarnaan gram adalah media *nutrient agar*, air murni, cawan petri, pipet, batang L, pembakar spiritus, tabung reaksi, mikroskop, *autoclaf*, oven, pewarna gram A, B, C, dan D, dan ose.

3.10 Prosedur Penelitian

3.10.1 Pengukuran Total Petroleum Hydrocarbons (TPH)

Pengukuran TPH berdasarkan EPA 1996 metode 3540C Soxhlet Extraction (Revision 3). Berikut adalah tahapan pengujian TPH dengan metode *Soxhlet Extraction*.

Cara kerja pengukuran TPH adalah sebagai berikut :

1. Cuplikan sampel diambil dari reaktor. Sampel diaduk terlebih dahulu dan dibersihkan dari benda-benda asing seperti ranting, daun, dan batu.
2. Dicampurkan 5 g sampel dengan 5 g natrium sulfat dan diletakkan di *extraction thimble*. *Extraction thimble* harus bisa dilalui dengan bebas dengan menambahkan *glass wool* di atas dan di bawahnya.
3. *Extraction thimble* dimasukkan ke dalam *Soxhlet extractor* atau *Drying column*.
4. *Extraction solvent* berupa 75 ml *n-hexane* dan 75 ml aseton disiapkan dan dimasukkan ke dalam *Soxhlet extractor*.
5. Kuderna-Danish (K-D) *concentrator* dipasang dan dilakukan ekstraksi selama 16 jam.
6. Setelah ekstraksi selesai, *Soxhlet extractor* yang berisi heksana dan aseton dilepaskan dari *Drying column*.
7. Labu destilasi kosong ditimbang dan *Soxhlet extractor* dipindahkan kedalam labu destilasi tersebut.
8. Sampel didestilasi sampai pelarutnya hilang dan yang terlihat hanya minyak saja.
9. Labu destilasi dimasukan ke dalam oven 100°C selama 2 jam.
10. Labu destilasi yang telah dioven dimasukan ke dalam desikator selama 30 menit kemudian labu ditimbang.
11. Catat hasil pengukuran.

3.10.2 Pengukuran pH

10,00 g contoh tanah ditimbang sebanyak dua kali, masing-masing dimasukkan ke dalam botol kocok, ditambah 50 ml air bebas ion ke botol yang satu (pH H₂O) dan 50 ml KCl 1 M ke dalam botol lainnya (pH KCl). Kemudian dikocok dengan mesin pengocok selama 30 menit. Suspensi tanah diukur dengan pH meter yang telah dikalibrasi menggunakan larutan *buffer* pH 7,0 dan pH 4,0. Nilai pH dilaporkan dalam 1 desimal.

3.10.3 Pengukuran Porositas

Pengukuran porositas pasir dilakukan dengan prinsip volume rongga dibagi dengan volume pasir. Langkah pertama adalah menyiapkan air sebanyak 500 ml dalam gelas ukur dan dicatat volume tersebut sebagai volume air awal (V_a). Selanjutnya, pada gelas ukur lainnya yang memiliki volume 1000 ml, dimasukkan pasir sampai tanda 500 ml. Untuk memenuhi rongga antar pasir, *beaker glass* cukup digoyang-goyangkan supaya masih terdapat rongga untuk dilalui oleh air. Pasir diratakan dan jika pasir menurun di bawah 500 ml, pasir ditambahkan sampai mencapai angka 500 ml.

Langkah selanjutnya, air dari gelas ukur pertama dituangkan secara perlahan ke gelas ukur kedua yang berisi pasir. Tunggu sampai air terserap ke dalam pasir dan penurunan muka air berhenti menjadi stabil. Amati pada gelas ukur berapa volume yang dicapai saat ini. Sebagian air akan mengisi pori-pori pasir dan sebagian lagi berada di atas pasir sampai garis batas volume tertentu, sehingga volume yang didapat tidak akan mencapai 1000 ml walaupun volume air awal 500 ml dan volume pasir juga 500 ml. Ruang kosong yang berada di atas air sebanding dengan banyaknya air yang mengisi pori-pori pasir. Tinggi air yang mengisi gelas ukur kedua ini dicatat dan diketahui sebagai volume air sisa (V_s).

Rumus untuk menghitung % porositas adalah :

$$\% \text{ porositas} = \frac{V \text{ berpori}}{V \text{ pasir}} \times 100$$

$$= \frac{(V_a - V_s)}{V_{pasir}} \times 100$$

3.10.4 Analisis Kadar Minyak Bumi secara Gravimetri

Analisis kadar minyak bumi secara Gravimetri dapat dilakukan dengan cara sampel air laut yang telah digunakan untuk pasang surut sebanyak 50 ml ditambahkan 60 ml n-heksan hasil pemurnian dengan destilasi bertingkat pada suhu 60°C, kemudian dikocok selama ± 15 menit lalu didiamkan sampai n-heksan terpisah. Terdapat 3 lapisan yaitu minyak solar, n-heksan dan air. Air dibuang, lapisan minyak solar dan n-heksan disaring dengan kertas saring yang telah diolesi ± 0,5 g Na₂SO₄ ke dalam gelas kimia 100 ml yang telah ditimbang. Gelas kimia dipanaskan pada suhu 60°C (sesuai dengan titik didih n-heksan) sampai n-heksan habis, airnya habis menguap dan yang tersisa hanya minyak (APHA, 1981). Gelas kimia tersebut diangkat dan didiamkan sampai dingin lalu ditimbang dan dicatat beratnya.

Dihitung kadar minyak solar dengan cara :

$$\text{Kadar minyak (g)} = (W_2 - W_1)$$

Keterangan: W₁ = berat gelas kimia kering (g)

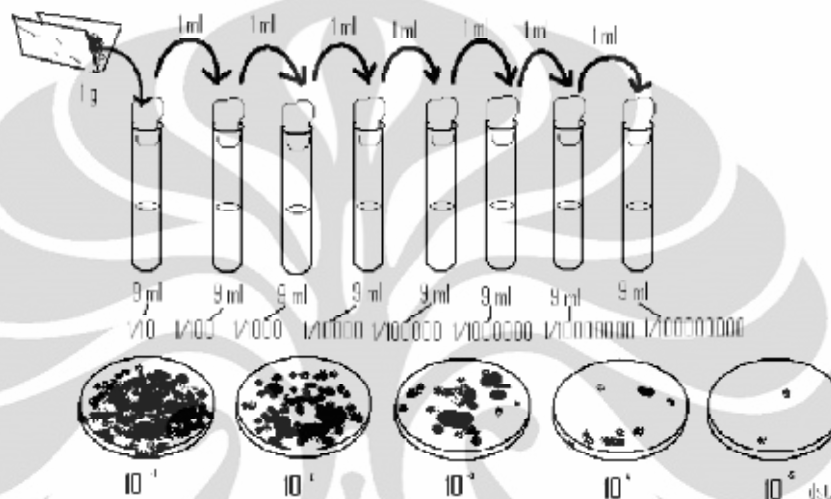
W₂ = berat gelas kimia dengan kadar minyak yang diperoleh (g)

3.10.5 Pemurnian Isolat

Sebelum dapat melakukan identifikasi jenis mikroba yang digunakan, terlebih dahulu dilakukan pemurnian isolat. Pemurnian isolat dilakukan untuk mempermudah pengambilan inokulum agar dapat diidentifikasi berdasarkan ciri morfologisnya. Dalam isolat mikroba yang digunakan, dimungkinkan terdapat berbagai jenis mikroorganisme, oleh karena itu setiap jenis mikroorganisme perlu dipisahkan satu sama lain.

Langkah pertama yang dilakukan adalah menumbuhkan mikroba pada media *Nutrien Agar* dengan melakukan pengenceran karena sampel cukup pekat. Untuk sampel mikroba yang berasal dari inokulum mikroba air biakan (sampel 1)

dilakukan pengenceran sampai tingkat 10^{-5} sedangkan untuk sampel mikroba air laut (sampel 2) dilakukan pengenceran sampai tingkat 10^{-4} . Pada sampel 1, isolat pada pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , dan 10^{-5} dipindahkan atau diinokulasikan ke medium *Nutrient Agar*, sedangkan dari sampel 2 diinokulasikan isolat pada pengenceran 10^{-2} , 10^{-3} , dan 10^{-4} . Masing-masing pengenceran dilakukan inokulasi sebanyak 2 kali (*duplo*) sehingga total terdapat 12 inokulum dalam 12 cawan.



Gambar 3. 1 Pengenceran Bertingkat

Sumber : Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Dasar Laboratorium Mikrobiologi Universitas Jenderal Soedirman

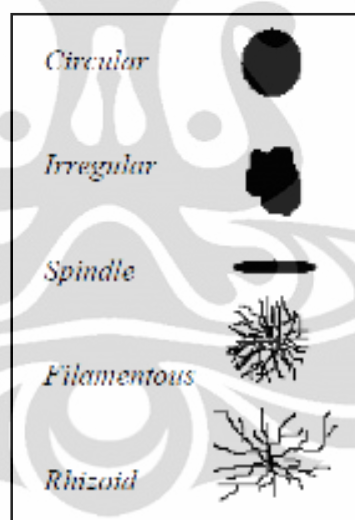
Isolat yang telah dipindahkan ke medium *Nutrien Agar* tersebut diinkubasi yaitu memeram mikroba pada suhu yang terkontrol agar koloni mikroba dapat tumbuh pada suhu 37°C selama 48 jam yang merupakan suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri mesofilik. Dari hasil inkubasi, mikroorganisme yang tumbuh pada setiap cawan diamati dan terlihat bahwa dalam setiap cawan terdapat beberapa jenis koloni yang secara morfologis berbeda, namun terdapat beberapa koloni yang memiliki kesamaan ciri morfologis antara cawan yang satu dengan cawan yang lainnya terutama pada sampel yang sama. Karena dalam satu cawan umumnya terdapat lebih dari satu jenis koloni yang berbeda, maka inokulum tersebut dibuat kultur murninya dengan cara menginokulasikan kembali jenis-jenis koloni tersebut ke medium *Nutrient Agar* yang baru, masing-masing ke dalam satu buah cawan. Inokulum mikroorganisme pada medium agar yang baru

tersebut kembali diinkubasikan pada suhu 37°C dan mikroorganisme yang tumbuh menjadi kultur murni.

3.10.6 Karakterisasi Mikroorganisme

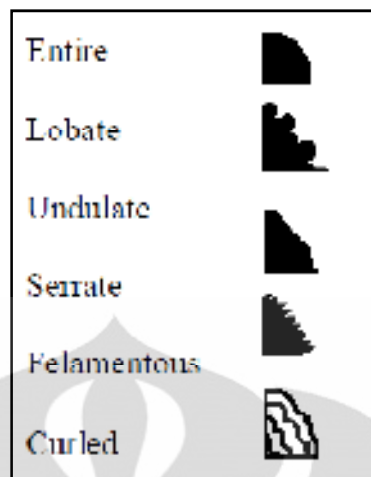
Tahap pertama yang dilakukan untuk dapat memulai karakterisasi mikroba adalah pengambilan sampel mikroorganisme dari Laboratorium Proses Balai Teknologi Lingkungan BPPT Puspiptek Serpong yang terdiri dari 2 buah sampel, yaitu mikroba biakan dan mikroba air laut. Sampel tersebut dibawa ke lokasi penelitian identifikasi mikroorganisme yaitu di Laboratorium Teknik Penyehatan dan Lingkungan Universitas Indonesia.

Ciri-ciri morfologis dari koloni yang terbentuk pada media *nutrien agar* berdasarkan karakteristik bentuk koloni dan bentuk tepian berdasarkan gambar di bawah ini.



Gambar 3. 4 Ciri-ciri Koloni Berdasarkan Bentuk Koloni

Sumber : Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Dasar Laboratorium Mikrobiologi Universitas Jenderal Sudirman, 2008



Gambar 3. 5 Ciri-ciri Koloni Berdasarkan Bentuk Tepian

Sumber : Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Dasar Laboratorium Mikrobiologi Universitas Jenderal Soedirman, 2008

Berdasarkan Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Dasar Laboratorium Mikrobiologi Universitas Jenderal Soedirman, koloni mikroba dapat dibedakan berdasarkan ciri-ciri permukaan yang dibagi menjadi :

- Halus mengkilap
- Kasar
- Berkerut
- Kering seperti bubuk

Koloni-koloni mikroba dari kedua sampel tersebut diinokulasikan kembali ke dalam 8 cawan yang berisi media *nutrient agar* supaya didapatkan kultur murni. Cawan-cawan tersebut kembali diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk kemudian dilakukan karakterisasi berdasarkan ciri-ciri morfologis sel secara mikroskopis dan dengan pewarnaan gram.

3.10.7 Pengecatan Gram

Preparat disiapkan lalu dikeringkan hingga kering. Jarum ose dipanaskan lalu dicelupkan ke larutan alkohol pendingin lalu biakan bakteri diambil. Preparat ditetesi air suling lalu diolesi bakteri dengan jarum ose sampai meyebar merata. Preparat tersebut difiksasi di atas nyala api selama beberapa waktu. Larutan Crystal Violet ditetaskan sebanyak 2 tetes pada olesan bakteri lalu dibiarkan

selama 1 menit. Preparat dicuci dengan air aquades lalu dikeringkan. Larutan lugol's iodine ditetaskan diatas preparat tersebut lalu dibiarkan selama 1 menit. Preparat dicuci dengan air aquades lalu dikeringkan. Larutan alkohol aseton ditetaskan diatas preparat tersebut lalu dibiarkan selama 30 detik. Preparat dicuci dengan air aquades lalu dikeringkan. Larutan safranin ditetaskan diatas preparat tersebut lalu dibiarkan selama 30 detik. Preparat dicuci dengan air aquades lalu dikeringkan dengan tissue. Setelah kering, preparat diolesi minyak imersi lalu diperiksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 4x, 40x, dan 100x.

3.10.8 Enumerasi Mikroorganisme

Dibuat pengenceran dari suspensi mikroba sampai 10^{-5} dan 10^{-4} menggunakan akuades sesuai dengan kebutuhan. Sampel yang telah diencerkan dengan menggunakan metode tuang diinokulasikan masing-masing pada 2 cawan petri pada setiap pengenceran. Cawan petri yang telah diinokulasikan diinkubasikan pada temperature 30°C , selama 24-72 jam. Diamati dan dihitung jumlah koloni yang tumbuh dari setiap pengenceran. Dipilih cawan petri yang memenuhi syarat untuk perhitungan TPC. Jumlah mikroba ditentukan per-ml sampel.

Berdasarkan Modul Praktikum Mikrobiologi Lingkungan Laboratorium Teknik Penyehatan dan Lingkungan Universitas Indonesia, syarat perhitungan jumlah koloni mikroba adalah :

- a. Jumlah koloni tiap cawan petri antara 30-300 koloni, bila tidak ada, pilih yang mendekati
- b. Tidak ada *spreader* (koloni yang menutup lebih dari setengah luas cawan petri)
- c. Bila perbandingan jumlah mikroba antara pengenceran yang lebih besar dengan pengenceran yang sebelumnya <2 , hasilnya dirata-ratakan, tetapi bila >2 , yang dipakai adalah jumlah mikroba dari pengenceran sebelumnya
- d. Rata-ratakan jumlah koloni mikroba untuk pengenceran yang sama.

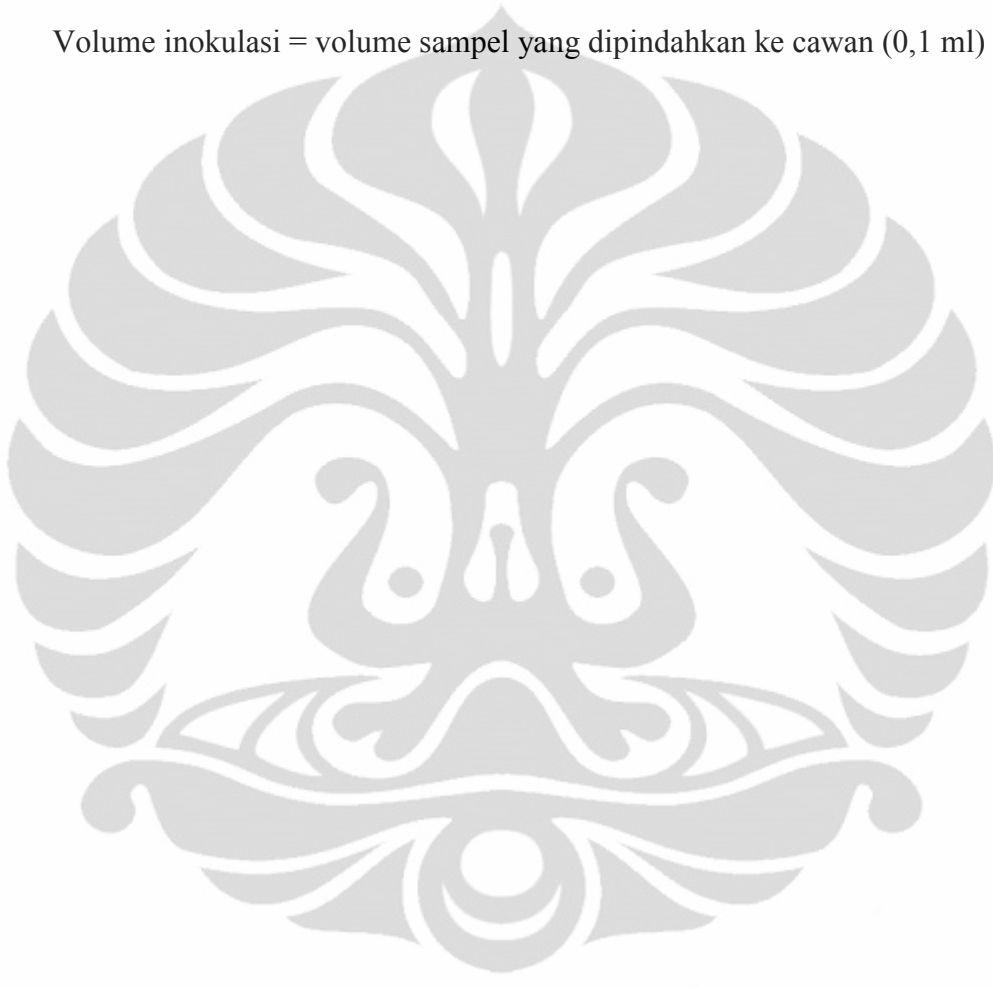
Dari hasil pengamatan jumlah koloni (CFU/plate) yang didapat maka perhitungan jumlah mikroba (CFU/ml) dilakukan dengan menggunakan persamaan :

$$\frac{CFU}{ml} = \frac{\frac{CFU}{plate} \times faktor\ pengenceran}{volume\ inokulasi\ (ml)}$$

Di mana :

$$Faktor\ pengenceran = \frac{1}{tingkat\ pengenceran}$$

Volume inokulasi = volume sampel yang dipindahkan ke cawan (0,1 ml)



BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Perhitungan Penambahan Nutrisi

Nutrisi merupakan faktor yang berpengaruh besar dalam sintesis dan pertumbuhan sel serta dalam aktivitas enzim yang dihasilkan oleh bakteri untuk mendegradasi polutan. Beberapa nutrisi penting yang dibutuhkan mikroorganisme adalah karbon, nitrogen, dan fosfor. Pada dasarnya semua mikroorganisme memerlukan karbon sebagai sumber energi untuk aktivitasnya. Nitrogen dan fosfor merupakan penyusun senyawa-senyawa penting dalam sel yang menentukan aktivitas pertumbuhan mikroorganisme (Alexander, 1994 dalam Wulan *et al.*, 2008).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Wulan *et al.* (2008) mengenai Penentuan Rasio Optimum C:N:P sebagai Nutrisi pada Proses Biodegradasi Benzena-Toluen dan Scale Up Kolom Bioregenerator menunjukkan bahwa rasio C:N:P yang paling optimum bagi bakteri untuk mendegradasi benzena-toluen adalah 100:10:1.

Berdasarkan hasil penelitian di atas, rasio C:N:P yang digunakan dalam penelitian bioremediasi kali ini adalah 100:10:1. Untuk mendapatkan rasio tersebut, dilakukan perhitungan komposisi minyak, pupuk NPK, dan pupuk Urea. Diasumsikan bahwa tidak terdapat kandungan karbon serta nitrogen dan fosfor dalam pasir sebelum terkontaminasi.

Minyak sebagai sumber karbon diasumsikan merupakan senyawa CH_2 yang ditambahkan adalah 250 gram untuk setiap sampel, maka :

$$\frac{12}{14} \times 250 \text{ gr} = \mathbf{214 \text{ gr}}$$

$$\text{C : N : P} = 214 : 21,4 : 2,14$$

P berasal dari NPK dengan perbandingan (N : P : K) 26 : 6 : 10

$$6\% \text{ NPK} = 2,14$$

$$NPK = \frac{2,14}{6\%} = 35,67 \text{ gr}$$

$$\begin{aligned} N \text{ yang berasal dari NPK} &= 26\% \times NPK \\ &= 26\% \times 35,67 \\ &= 9,27 \text{ gr} \end{aligned}$$

Maka N dari Urea

$$\begin{aligned} N_{\text{total}} &= N_{\text{NPK}} + N_{\text{Urea}} \\ N_{\text{Urea}} &= 21,4 - 9,27 = 12,13 \text{ gr} \end{aligned}$$

Karena kandungan Nitrogen dalam Urea adalah 46%, maka urea yang digunakan

$$= \frac{12,13}{46\%} = 26,36 \text{ gr}$$

4.2 Inokulasi (*Seeding*) Mikroba

Mikroba yang digunakan pada penelitian ini bersumber dari dua jenis, yaitu :

1. Mikroba asli : Pasir dan air laut dimasukkan ke dalam sebuah ember yang diberikan aerator dan ditambahkan gula, NPK, dan Urea untuk menstimulasi kehidupan mikroba asli yang kemungkinan terdapat pada sumber pasir dan air laut. Pada hari ke-3, konsorsium mikroba ditambahkan minyak untuk menstimulasi pertumbuhan mikroba yang mampu mendegradasi hidrokarbon. Dengan ini diharapkan, bahwa mikroba laut yang mampu bertahan adalah mikroba yang dapat memiliki kemampuan untuk mendegradasi minyak.



Gambar 4. 2 Konsorsium Mikroba Hari Ke-1 dan Ke-6



Gambar 4. 3 Konsorsium Mikroba Hari Ke-10

Sumber : Dokumentasi Penulis

2. Mikroba air tawar biakan : Mikroba pendegradasi minyak air tawar yang sebelumnya telah dibiakkan serta ditambahkan minyak di Laboratorium Proses Balai Teknologi Lingkungan secara berkala ditambahkan air laut supaya mikroba yang telah ada tersebut dapat beradaptasi dengan kondisi air laut pantai. Dengan demikian, mikroba yang dapat bertahan dalam biakan ini adalah mikroba yang mampu mendegradasi minyak serta dapat bertahan dalam salinitas tinggi.



Gambar 4. 4 Konsorsium Mikroba Air Tawar

Sumber : Dokumentasi Penulis

Kedua jenis sumber mikroba tersebut digabungkan untuk ditambahkan pada sampel pasir dengan metode bioaugmentasi, di mana pada metode bioaugmentasi mikroorganisme tertentu ditambahkan untuk memperkaya mikroba pendegradasi hidrokarbon yang telah ada pada lahan tercemar minyak.

4.3 Karakterisasi Mikroorganisme

Mikroorganisme yang digunakan dalam penelitian bioremediasi sebagai pendegradasi hidrokarbon di pasir pantai yang terkontaminasi *crude oil* berasal dari Laboratorium Proses Balai Teknologi Lingkungan BPPT Puspiptek Serpong dan ditambah dengan mikroorganisme asli yang di air laut Teluk Jakarta. Karakterisasi mikroorganisme ini dilakukan untuk dapat mengetahui ciri-ciri mikroorganisme yang digunakan dalam proses bioremediasi. Karakterisasi mikroorganisme dilakukan berdasarkan pada ciri morfologis dan ciri mikroskopis yaitu bentuk koloni, bentuk tepian, permukaan, bentuk sel, dan pewarnaan gram.

Karakteristik koloni isolat mikroorganisme dari sampel mikroba air tawar biakan (sampel 1) dengan pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , dan 10^{-5} ditunjukkan pada tabel 4.1.

Tabel 4. 2 Karakteristik Koloni Isolat Mikroba Biakan

Isolat	Cawan	Koloni	Bentuk Koloni	Bentuk Tepian	Permukaan
3-1	a	1	<i>Circular</i>	<i>Curled</i>	Kasar
		2	<i>Irregular</i>	<i>Entire</i>	Mengkilap
	b	1	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Mengkilap
		2	<i>Irregular</i>	<i>Undulate</i>	Kasar
4-1	a	1	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Mengkilap
	b	1	<i>Circular</i>	<i>Curled</i>	Kasar
		2	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Mengkilap
5-1	a	1	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Mengkilap
		2	<i>Irregular</i>	<i>Entire</i>	Mengkilap
	b	1	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Mengkilap
		2	<i>Irregular</i>	<i>Entire</i>	Mengkilap

Sumber : Pengolahan Penulis

Karakteristik koloni isolat mikroorganisme dari sampel mikroba air laut (sampel 2) dengan pengenceran 10^{-2} , 10^{-3} , dan 10^{-4} ditunjukkan pada tabel 4.2.

Tabel 4. 3 Karakteristik Koloni Isolat Mikroba Air Laut

Isolat	Cawan	Koloni	Bentuk Koloni	Bentuk Tepian	Permukaan
2-2	a	1	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	Kasar
		2	<i>Irregular</i>	<i>Undulate</i>	Kasar
	b	1	<i>Irregular</i>	<i>Undulate</i>	Kasar
3-2	a	1	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	Mengkilap
		2	<i>Irregular</i>	<i>Undulate</i>	Mengkilap
	b	1	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Mengkilap
		2	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>	Mengkilap
4-2	a	1	<i>Irregular</i>	<i>Lobate</i>	Mengkilap
		2	<i>Irregular</i>	<i>Entire</i>	Mengkilap
	b	1	<i>Irregular</i>	<i>Entire</i>	Mengkilap

Sumber : Pengolahan Penulis

Koloni-koloni mikroba dari kedua sampel tersebut diinokulasikan kembali ke dalam 8 cawan yang berisi media *nutrient agar* supaya didapatkan kultur murni. Hasil pengamatan sel ditunjukkan pada Tabel 4.3.

Tabel 4. 4 Karakteristik Sel Isolat Mikroba

Isolat	Bentuk Sel	Gram
3-1 a	Batang	Positif
3-1 b	Batang	Negatif
4-1 b	Batang	Positif
5-1 a	Bulat	Negatif
2-2 b	Batang	Negatif
3-2 a	Bulat	Positif
3-2 b	Batang	Negatif
4-2 a	Bulat	Negatif

Sumber : Pengolahan Penulis

4.4 Enumerasi Mikroorganisme

Tujuan dilaksanakannya enumerasi atau perhitungan mikroorganisme adalah untuk menghitung berapa banyak jumlah mikroorganisme pada sampel konsorsium mikroba dan air laut dengan cara tidak langsung, yaitu dengan menggunakan metode TPC (*Total Plate Count*).

Hasil pengamatan jumlah koloni pada setiap cawan untuk sampel 1 adalah sebagai berikut :

Tabel 4. 5 Rata-rata Jumlah Koloni Isolat Mikroba Biakan

Tingkat Pengenceran	Jumlah Koloni (CFU/plate)	Rata-Rata Jumlah Koloni (CFU/plate)
10^{-3}	1. >300 2. >300	Tidak dapat dihitung
10^{-4}	1. 43 2. >300	43
10^{-5}	1. 15 2. 36	25,5

Sumber : Pengolahan Penulis

Dari tabel hasil pengamatan rata-rata jumlah koloni di atas diketahui bahwa semakin besar tingkat pengenceran, maka semakin sedikit jumlah koloni mikroba yang terbentuk.

Karena pada pengenceran 10^{-3} kedua cawan menunjukkan jumlah koloni lebih dari 300, maka data dari tingkat pengenceran tersebut tidak dimasukkan ke dalam perhitungan. Perhitungan jumlah koloni mikroba (CFU/ml) untuk sampel 1 adalah sebagai berikut :

Tabel 4. 6 Jumlah Koloni Mikroba Biakan (CFU/ml)

Tingkat Pengenceran	Jumlah Koloni (CFU/plate)	Jumlah Koloni (CFU/ml)
10^{-4}	43	43×10^5
10^{-5}	25,5	255×10^5

Sumber : Pengolahan Penulis

Berdasarkan perhitungan di atas, maka dapat diketahui bahwa jumlah mikroorganisme pada sampel 1 yaitu sampel mikroba air tawar biakan adalah antara $(43 - 255) \times 10^5$ CFU/ml. Hasil pengamatan untuk sampel 2 diperlihatkan pada Tabel 4.6.

Tabel 4. 7 Rata-rata Jumlah Koloni Isolat Mikroba Air Laut

Tingkat Pengenceran	Jumlah Koloni (CFU/plate)	Rata-Rata Jumlah Koloni (CFU/plate)
10^{-2}	1. 63 2. 110	86,5
10^{-3}	1. 27 2. 24	25,5
10^{-4}	1. 37 2. 13	25

Sumber : Pengolahan Penulis

Dari tabel hasil pengamatan rata-rata jumlah koloni di atas diketahui bahwa semakin besar tingkat pengenceran, maka semakin sedikit jumlah koloni mikroba yang terbentuk. Perhitungan jumlah mikroba (CFU/ml) untuk sampel 2 adalah sebagai berikut :

Tabel 4. 8 Jumlah Koloni Mikroba Biakan (CFU/ml)

Tingkat Pengenceran	Jumlah Koloni (CFU/plate)	Jumlah Koloni (CFU/ml)
10^{-2}	86,5	$86,5 \times 10^3$
10^{-3}	25,5	$25,5 \times 10^4$
10^{-4}	25	25×10^5

Sumber : Pengolahan Penulis

Untuk menentukan *range* jumlah mikroba pada sampel 2, dilakukan perhitungan sebagai berikut.

$$\frac{10^{-4}}{10^{-3}} = \frac{25 \times 10^5}{25,5 \times 10^4} = 9,8 > 2$$

Karena nilai perbandingan di atas lebih besar dari 2, maka digunakan nilai dari pengenceran sebelumnya, yaitu $25,5 \times 10^4$ CFU/ml.

$$\frac{10^{-3}}{10^{-2}} = \frac{25,5 \times 10^4}{86,5 \times 10^3} = 2,9 > 2$$

Karena nilai perbandingan di atas lebih besar dari 2, maka digunakan nilai dari pengenceran sebelumnya, yaitu $86,5 \times 10^3$ CFU/ml.

Berdasarkan perhitungan di atas, maka dapat diketahui bahwa jumlah mikroorganisme pada sampel 2 yaitu sampel mikroba air laut asli adalah antara $86,5 \times 10^3$ CFU/ml s/d $25,5 \times 10^4$ CFU/ml atau $(0,865 - 2,55) \times 10^5$ CFU/ml.

Berdasarkan perhitungan jumlah mikroba di atas yang terdiri dari 2 sumber mikroba yaitu mikroba yang berasal dari air tawar yang dibiakkan dan mikroba asli yang berasal dari air laut, dapat disimpulkan bahwa mikroba air tawar biakan berjumlah lebih banyak dari mikroba air laut. Karena kedua sumber mikroba tambahan dalam penelitian ini dicampurkan, maka jumlah keduanya jika dijumlahkan menjadi $(4,39 - 25,7) \times 10^6$ CFU/ml.

4.5 Data Total Petroleum Hydrocarbon

Hasil akhir dari penelitian bioremediasi dengan perbandingan antara metode biostimulasi dan bioaugmentasi ini ditunjukkan dalam bentuk data persen kandungan *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH) dalam setiap metode atau perlakuan. Berikut adalah tabel data % *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH) sebagai hasil proses bioremediasi pasir terkontaminasi minyak selama 7 minggu.

Tabel 4. 9 Data TPH Sampel Pasir dari Minggu ke-0 sampai Minggu ke-7

Jenis Perlakuan	% TPH							
	Minggu ke-							
	0	1	2	3	4	5	6	7
Biostimulasi a	4,988	4,045	3,477	2,957	2,779	2,733	2,552	2,412
Biostimulasi b	4,99	4,72	4,512	4,291	3,734	3,709	3,676	3,501
Bioaugmentasi a	4,981	3,768	3,17	2,976	2,604	2,54	2,228	2,189
Bioaugmentasi b	5,07	4,625	4,339	4,122	3,206	3,127	2,848	2,383
Blanko a	4,997	4,125	3,609	3,59	3,52	3,386	3,056	2,96
Blanko b	5,27	4,88	4,8	4,621	4,54	4,508	4,459	4,078

Sumber : Pengolahan Penulis

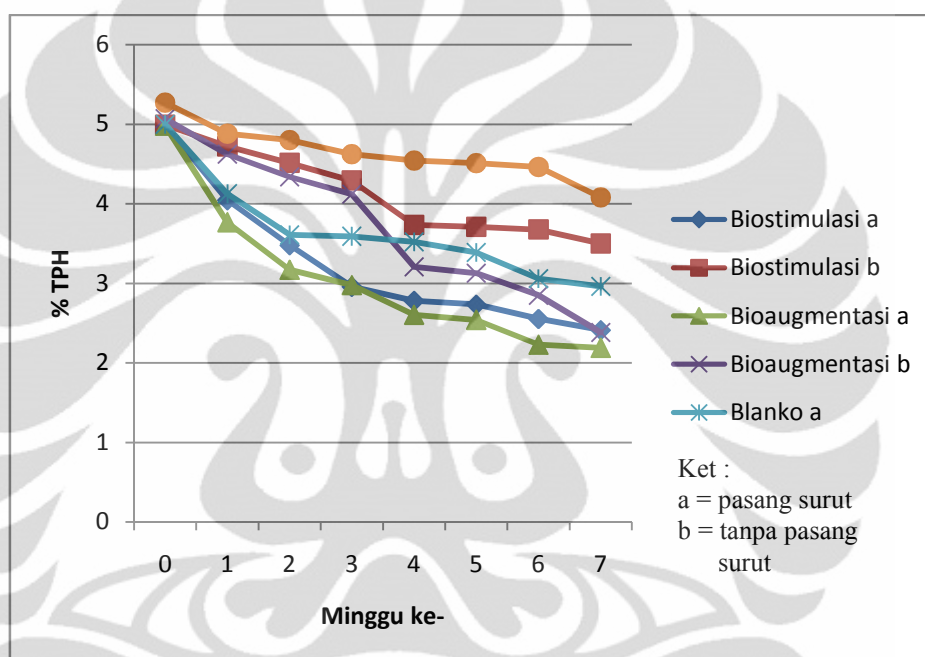
Keterangan :

a : Dengan pasang surut

b : Tanpa pasang surut

4.6 Analisa *Total Petroleum Hydrocarbon*

Berdasarkan data persen kandungan *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH) yang telah diperoleh selama eksperimen ini yang ditunjukkan pada Tabel 4.8, dapat diperoleh grafik yang menunjukkan persen penurunan TPH dalam bentuk grafis. Penelitian bioremediasi ini dilakukan selama 7 minggu dan menunjukkan grafik TPH mengalami penurunan selama waktu tersebut seperti terlihat pada grafik di bawah ini.



Gambar 4. 4 Grafik Penurunan TPH

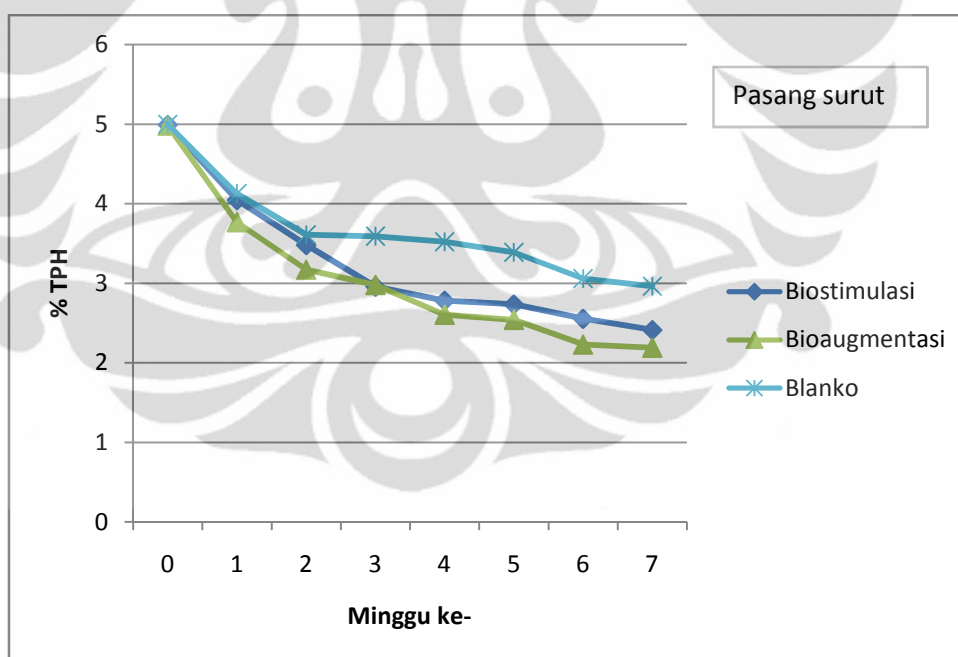
Sumber : Pengolahan Penulis

Tabel dan grafik penurunan TPH di atas menunjukkan bahwa kadar TPH terendah dimiliki oleh metode bioaugmentasi pasang surut yaitu 2,189 % pada minggu ke 7 dan kadar TPH tertinggi yaitu 4,078 % yang dimiliki blanko tanpa pasang surut pada minggu ke 7. Penurunan TPH cenderung stabil mulai minggu ke 4. Perubahan kadar TPH ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu pasang surut, faktor lingkungan, dan mikroba.

4.6.1 Pasang Surut

Dari grafik pada Gambar 4.4 terlihat bahwa pasir yang mengalami pasang surut mengalami penurunan TPH lebih signifikan dibandingkan dengan pasir yang tidak mengalami pasang surut. Hal ini dimungkinkan terjadi karena air pasang mengandung mikroba air laut yang dapat mendegradasi minyak. Namun, lebih rendahnya kadar TPH pada pasir yang mengalami pasang surut juga dapat terjadi karena minyak ikut terbawa arus pasang surut atau mengalami pencucian sehingga kadar TPH cepat berkurang.

Untuk lebih memperjelas analisis terhadap penurunan TPH pada penelitian bioremediasi ini, grafik dibagi menjadi dua, yaitu grafik penurunan TPH pada sampel yang mengalami pasang surut dan grafik penurunan TPH pada sampel yang tidak mengalami pasang surut. Gambar 4.5 menunjukkan grafik penurunan TPH pada kondisi pasang surut.



Gambar 4. 5 Grafik Penurunan TPH Pasang Surut

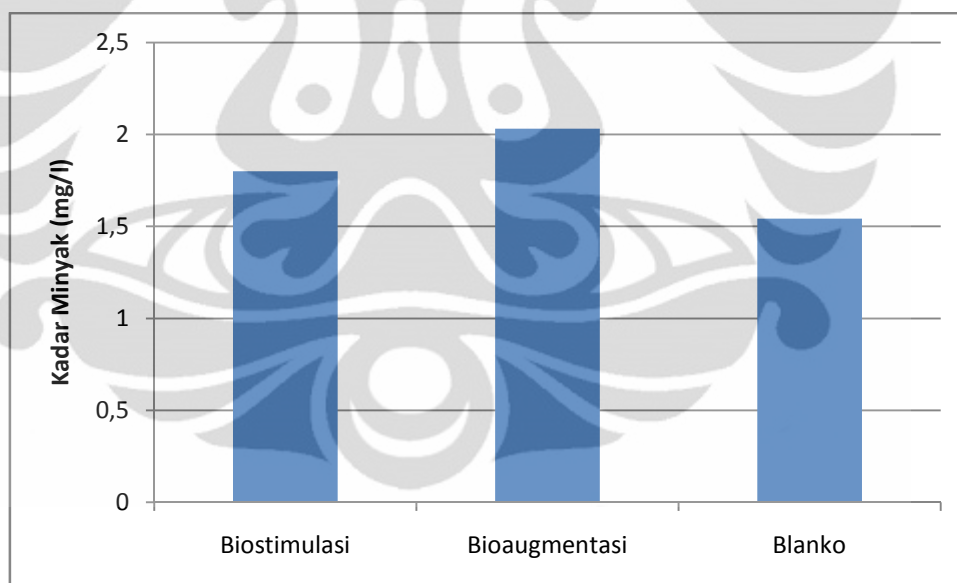
Sumber : Pengolahan Penulis

Dari grafik di atas, secara keseluruhan ketiga perlakuan mengalami penurunan TPH sebesar 20-40% pada 2 minggu awal, di mana kadar TPH awal sebesar 5% turun menjadi sekitar 3-4%. Pada blanko tidak diberikan perlakuan apapun baik

penambahan nutrisi maupun penambahan mikroba, oleh karena itu penurunan TPH pada blanko yang cukup drastis di 2 minggu awal kemungkinan disebabkan karena minyak terbawa arus pasang surut.

Sampai minggu ketiga, metode biostimulasi dan bioaugmentasi mengalami penurunan TPH yang cukup signifikan yaitu sekitar 40%. Setelah minggu ke 3, metode biostimulasi dan bioaugmentasi masih mengalami penurunan TPH namun penurunannya tidak sedrastis 3 minggu pertama. Penurunan TPH ketiga perlakuan terutama pada beberapa minggu awal juga dimungkinkan karena efek pencucian oleh arus pasang surut yang membawa kandungan minyak keluar.

Untuk mengetahui apakah minyak terbawa oleh arus pasang surut, dilakukan pengukuran kadar minyak dengan metode gravimetri pada sampel air laut yang keluar dari reaktor pada akhir penelitian. Hasil pengukuran kadar minyak diperlihatkan pada Gambar 4.6.



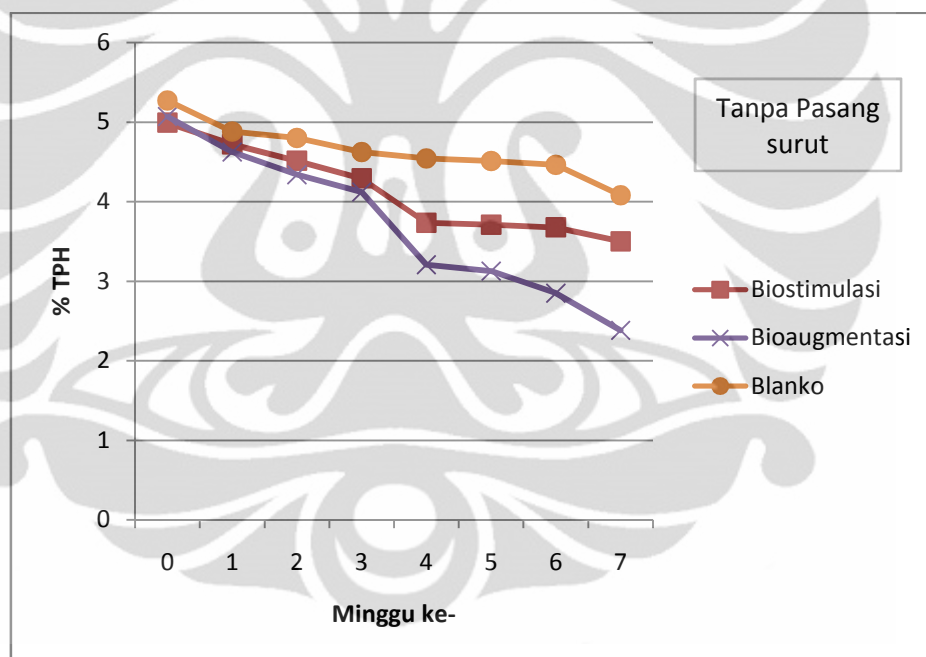
Gambar 4. 6 Kadar Minyak yang Terbawa Arus Pasang Surut

Sumber : Pengolahan Penulis

Berdasarkan Gambar 4.6, terlihat bahwa dalam setiap liter air laut yang keluar dari reaktor setelah digunakan sebagai pasang surut, terdapat minyak dengan kadar antara 1,542 – 2,032 mg/l. Karena air laut yang digunakan untuk pasang surut sebanyak 2 liter, maka kadar minyak yang terbawa dari satu peristiwa

pasang surut di akhir penelitian berkisar antara 3,08 – 4,06 mg. Kadar minyak tertinggi berada pada air pasang surut metode bioaugmentasi, disusul oleh metode biostimulasi, dan kadar minyak terendah terkandung pada air laut dari blanko. Kondisi ini sebanding dengan penurunan TPH dari ketiga perlakuan tersebut di mana kadar TPH terendah dimiliki oleh metode bioaugmentasi dan tertinggi dimiliki oleh blanko. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat cemaran minyak pada pasir yang terbawa oleh arus pasang surut, namun kondisi ini tidak dapat menginterpretasikan kadar minyak yang terbawa air laut setiap harinya, karena pengukuran hanya dilakukan satu kali di akhir penelitian.

Penurunan TPH pada percobaan tanpa pengaruh pasang surut ditunjukkan dalam Gambar 4.7.



Gambar 4. 7 Grafik Penurunan TPH Tanpa Pasang Surut

Sumber : Pengolahan Penulis

Pada bioremediasi tanpa pengaruh pasang surut, metode bioaugmentasi menunjukkan kisaran penurunan TPH yang cukup jauh dengan metode biostimulasi. Hal ini dapat disebabkan karena mikroba yang secara alami terdapat pada pasir yang digunakan tidak memiliki kemampuan dan jumlah yang cukup untuk dapat mendegradasi kandungan hidrokarbon. Di samping itu, mikroba yang

ditambahkan pada metode bioaugmentasi kemungkinan memiliki kemampuan lebih baik dan efektif untuk mendegradasi senyawa hidrokarbon yang terdapat pada pasir. Dengan dilakukan penambahan mikroba, jumlah mikroba pada sampel tersebut juga menjadi lebih banyak dan semakin diperkaya.

Pada blanko terlihat sedikit penurunan TPH terutama pada minggu pertama. Hal ini menunjukkan bahwa pada pasir pantai yang digunakan dimungkinkan terdapat mikroorganisme asli pantai yang mampu mendegradasi minyak. Namun, kadar TPH pada blanko tetap tidak mengalami penurunan yang signifikan karena keterbatasan nutrisi untuk pertumbuhan mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon. Jika dibandingkan dengan bioremediasi yang mengalami pasang surut, blanko pada bioremediasi tanpa pasang surut mengalami penurunan yang lebih lambat. Hal ini mengindikasikan kemungkinan adanya efek pencucian oleh air pasang surut, di mana minyak ikut terbawa oleh air pasang surut tersebut.

Berdasarkan analisa terhadap hasil penelitian bioremediasi antara pasir yang terkena pengaruh pasang surut dengan pasir yang tidak mengalami pengaruh pasang surut, diketahui bahwa peristiwa pasang surut memberikan efek pengurangan kadar minyak pada pasir terkontaminasi minyak dibandingkan dengan jika tidak terjadinya peristiwa pasang surut.

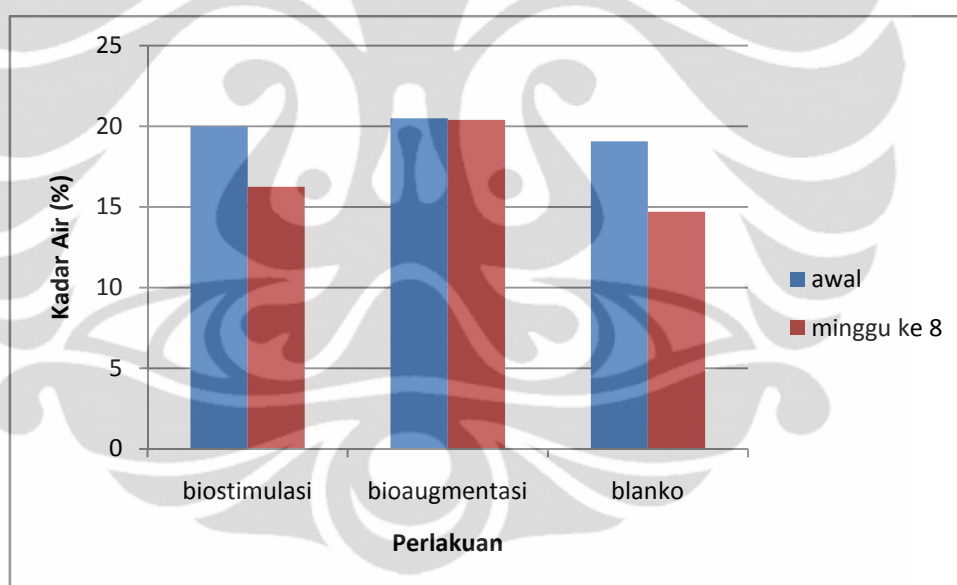
4.6.2 Faktor Lingkungan

4.6.2.1 Kadar Air

Kemampuan mikroorganisme untuk mendegradasi hidrokarbon dipengaruhi oleh faktor-faktor lingkungan yaitu kadar air, pH, suhu, dan nutrisi. Kadar air dalam sedimen harus berada pada kondisi yang tepat agar ketersediaan air tercukupi dan transfer oksigen yang dapat masuk melalui pori-pori sedimen dapat berlangsung dengan baik. Pada penelitian yang dilakukan oleh Cho *et al.* (2000) mengenai pengaruh faktor lingkungan dalam bioremediasi tanah terkontaminasi *chlorophenol* oleh mikroorganisme asli, dengan *moisture content* antara 10 sampai 40% diketahui bahwa laju degradasi paling tinggi terjadi pada *moisture content* 11 dan 15% dan yang terendah pada kadar *moisture content* 25%. Pada penelitian ini, kadar air pada sampel tanpa pasang surut berkisar antara 14,71% -

20,5%. Kondisi kadar air pada sampel pasir tanpa pasang surut diperlihatkan pada Gambar 4.8.

Berdasarkan Gambar 4.8, terlihat bahwa kadar air tertinggi dimiliki oleh metode bioaugmentasi yang pada awal percobaan berada pada nilai 20,5% dan di akhir percobaan memiliki kadar air sebesar 20,38%. Tingginya kadar air pada sampel bioaugmentasi kemungkinan diakibatkan oleh lebih besarnya *water holding capacity* yang dipengaruhi oleh material organik. Material organik ini diindikasikan berasal dari konsorsium mikroba yang ditambahkan yang bersumber dari biakan mikroba pada media air. Material-material organik tersebut dimungkinkan merupakan hasil metabolisme mikroba pada media air yang mengubah hidrokarbon menjadi zat organik sederhana selain karbondioksida dan air.



Gambar 4. 8 Kadar Air Pasir Awal dan Minggu ke-8

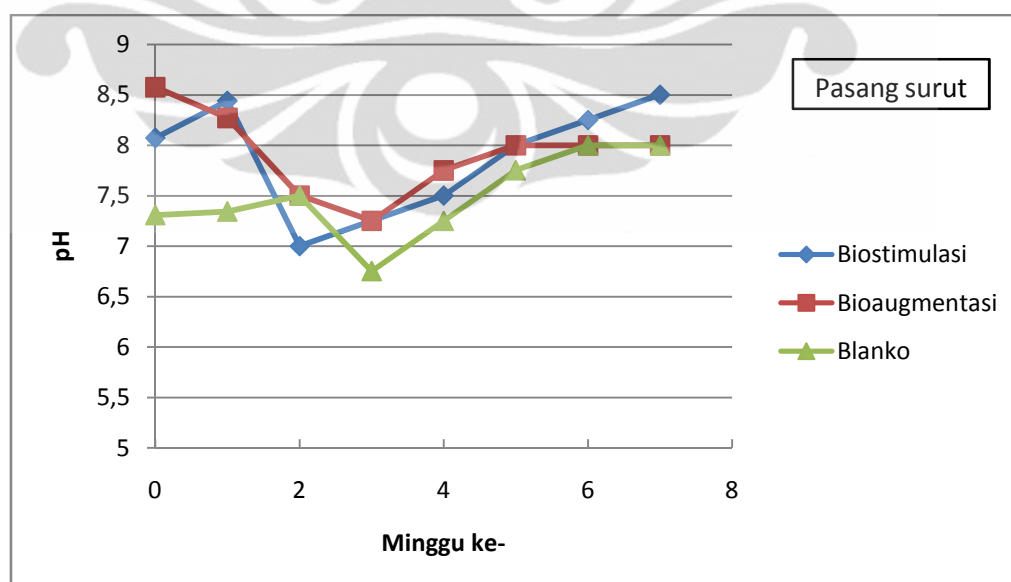
Sumber : Pengolahan Penulis

Metode bioaugmentasi juga menunjukkan hasil biodegradasi yang paling optimal yang terlihat dari penurunan TPH yang mencapai 2,38%. Hal ini memungkinkan indikasi bahwa kadar air dan oksigen yang terlarut dalam air pada sampel tersebut cukup bagi pertumbuhan mikroba.

Grafik penurunan TPH pada bioremediasi tanpa pasang surut menggambarkan penurunan persen TPH yang cenderung lebih lambat dibandingkan dengan bioremediasi pasir dengan pasang surut terutama pada awal penelitian. Pada tiga minggu pertama, kadar TPH dari ketiga perlakuan pada bioremediasi pasir tanpa pasang surut masih berkisar antara 4-5%. Hal ini dimungkinkan karena kondisi pasir yang cukup kering sehingga pertumbuhan mikroorganisme terhambat karena kurangnya kadar air. Mulai minggu ketiga, pasir ditambahkan air secara berkala untuk menjaga kestabilan kadar air. Pemberian air tersebut menunjukkan pengaruh terhadap laju penurunan TPH karena pada minggu ke-4 TPH mengalami penurunan yang cukup besar terutama pada metode bioaugmentasi.

4.6.2.2 pH

pH merupakan salah satu faktor penting yang mendukung kemampuan biodegradasi mikroorganisme dalam proses bioremediasi. Menurut Department of Energy and the Petroleum Environmental U.S. (2002), pH optimal untuk biodegradasi berkisar antara 6.0 – 8.5. Kondisi perubahan pH pada penelitian bioremediasi dengan metode biostimulasi dan bioaugmentasi dengan pengaruh pasang surut diperlihatkan pada Gambar 4.9. Pada pasir dengan pengaruh pasang surut, pH yang dimiliki berkisar antara 6,57-8,5.



Gambar 4. 9 pH Pasir Pasang Surut Selama Proses Bioremediasi

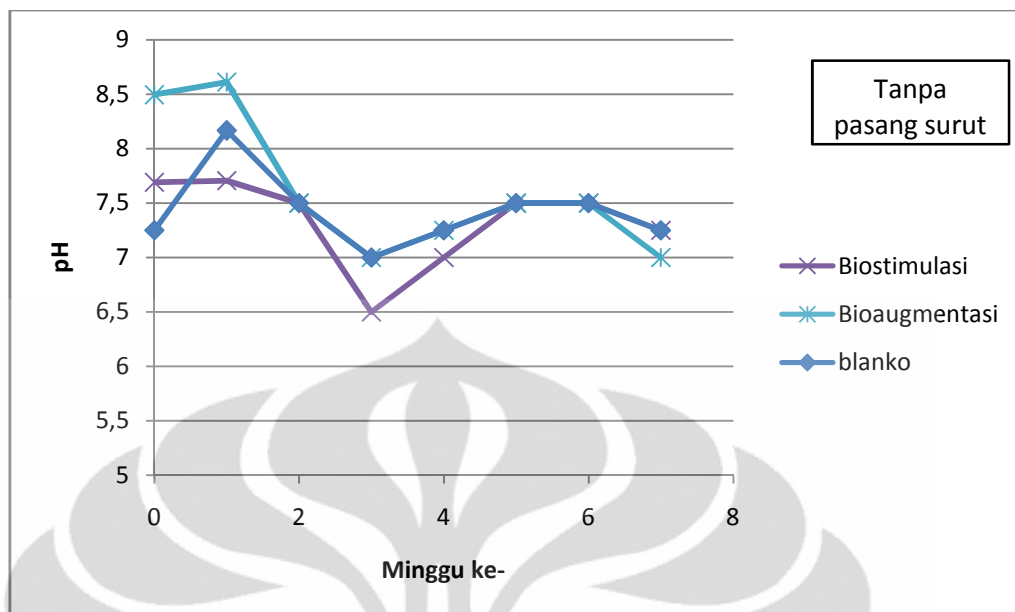
Sumber : Pengolahan Penulis

Dari grafik di atas terlihat bahwa pH cenderung mengalami penurunan pada minggu ke-2 dan ke-3 dan kemudian mengalami kenaikan kembali mulai minggu ke-4. Penurunan pH diduga disebabkan oleh aktivitas konsorsium bakteri yang membentuk metabolit-metabolit asam atau karena terakumulasinya asam organik (terutama asam glukonat, piruvat, sitrat dan suksinat) yang terbentuk dari metabolisme gula (Gosalam *et al.*, 2008). Aktivitas mikroorganisme yang mendegradasi hidrokarbon ini ditunjukkan pada penurunan TPH yang terjadi, terutama pada metode biostimulasi dan bioaugmentasi. Pada blanko, pH yang cukup stabil dan menunjukkan rendahnya aktivitas mikroorganisme sesuai dengan grafik penurunan TPH pada blanko yang kurang signifikan terutama mulai minggu ke-2.

Pada minggu ke-1, metode bioaugmentasi mengalami penurunan pH dibandingkan dengan sampel metode biostimulasi. Hal ini dimungkinkan karena aktivitas mikroorganisme pada metode bioaugmentasi lebih tinggi akibat jumlah mikroorganisme yang lebih besar karena adanya penambahan mikroba sedangkan pada metode biostimulasi hanya mikroba yang diperkirakan ada pada sampel yang mungkin mendegradasi hidrokarbon.

Peningkatan pH mulai minggu ke-4 ditunjukkan pula pada grafik penurunan TPH yang tidak mengalami penurunan yang signifikan pada minggu tersebut. Hal ini mengindikasikan kemungkinan aktivitas mikroorganisme yang mulai menurun dalam mendegradasi hidrokarbon. Gosalam *et al.* (2008) menyebutkan bahwa peningkatan pH dapat disebabkan adanya perombakan protein oleh sel-sel bakteri yang telah mati atau perombakan gugus-gugus samping rantai hidrokarbon yang berikatan dengan gugus-gugus tertentu yang akan menghasilkan senyawa atau ion yang bersifat basa. Peningkatan pH menurut Gosalam *et al.* (2008) juga dapat disebabkan oleh adanya kemampuan bakteri dalam melakukan respon toleransi asam dengan mekanisme pompa hidrogen.

Kondisi perubahan pH pada sampel tanpa pasang surut ditunjukkan pada Gambar 4.10. pH pada sampel tanpa pengaruh pasang surut berkisar antara 6,5-8,6.



Gambar 4. 10 pH Pasir Tanpa Pasang Surut Selama Proses Bioremediasi

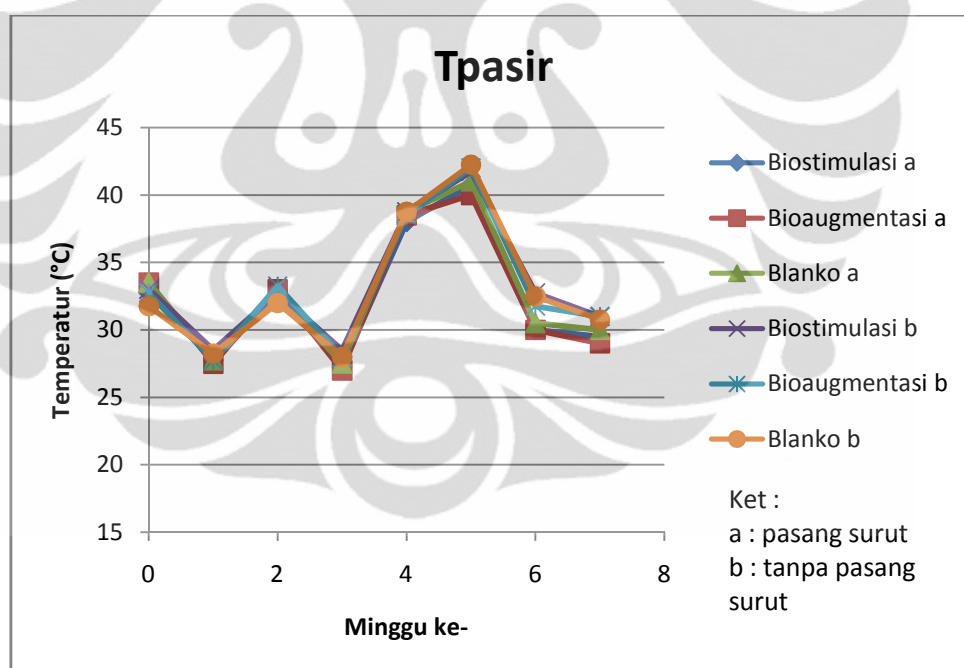
Sumber : Pengolahan Penulis

Hampir serupa dengan metode pasang surut, pH pada sampel penelitian bioremediasi tanpa pengaruh pasang surut mengalami penurunan sampai minggu ke-3 sebelum kemudian pH meningkat kembali. Penurunan pH juga dimungkinkan karena adanya aktivitas mikroba yang meningkat terutama pada minggu ke-2 dan ke-3. Hal ini sesuai dengan grafik penurunan TPH pada sampel tanpa pengaruh pasang surut yang mengalami penurunan.

Namun, pada sampel tanpa pasang surut, peningkatan pH pada minggu ke-4 dan seterusnya tidak setinggi sampel dengan pasang surut. pH cenderung stabil pada minggu ke-5 dan sedikit mengalami penurunan pada minggu ke-7 yang dimungkinkan akibat aktivitas mikroorganisme yang kembali mengalami peningkatan. Perubahan pH ini sesuai dengan grafik penurunan TPH yang mengalami penurunan kembali sampai minggu ke-7 terutama pada metode bioaugmentasi. Aktivitas mikroorganisme yang kembali meningkat ini dimungkinkan akibat peningkatan kadar air seperti yang telah dijelaskan pada poin 4.6.2.1.

4.6.2.3 Temperatur

Suhu merupakan salah satu faktor penting dalam mendukung pertumbuhan mikroorganisme, termasuk mikroorganisme pendegradasi minyak. Baker dan Herson (1994) menyatakan bahwa proses biologis umumnya meningkat seiring dengan meningkatnya temperatur sampai temperatur maksimal di mana terjadi denaturasi enzim yang akan menghambat dan mematikan sel. Pada umumnya, sebagian besar proyek bioremediasi dilaksanakan pada kondisi mesofil di mana suhu optimal antara 25 dan 40°C, walaupun banyak pula ditemukan degradasi kontaminan oleh mikroba yang hidup pada suhu sangat tinggi ataupun sangat rendah. Pada penelitian bioremediasi ini, temperatur mengalami perubahan-perubahan, baik temperatur pada pasir, temperatur udara di dalam reaktor, dan temperatur ambien. Perubahan temperatur pasir selama proses bioremediasi diperlihatkan dalam Gambar 4.11.



Gambar 4. 11 Perubahan Temperatur Pasir

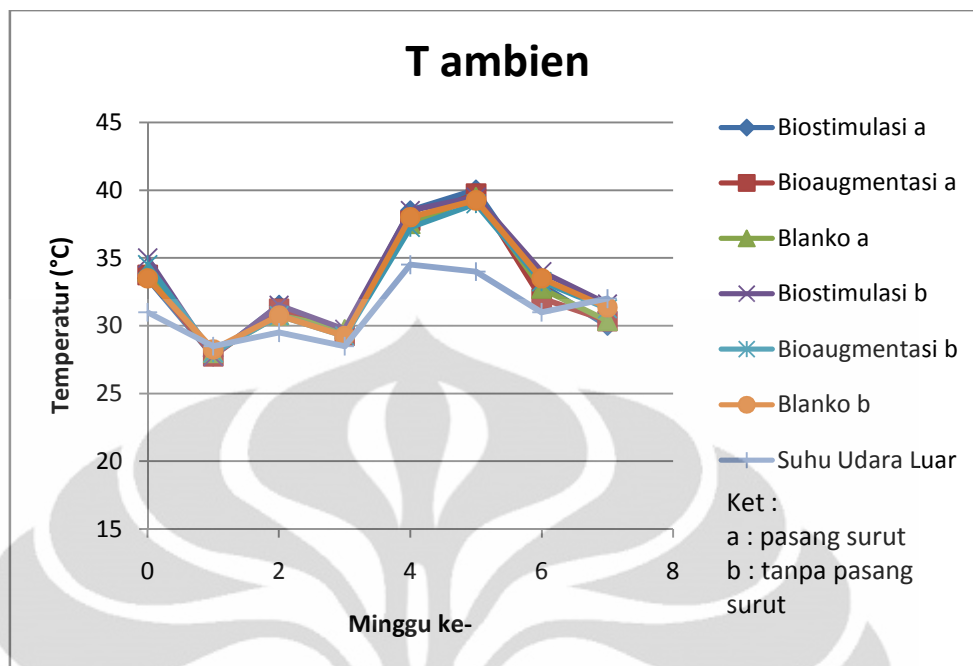
Sumber : Pengolahan Penulis

Dari grafik perubahan suhu pasir pada gambar 4.11 terlihat bahwa suhu pasir berkisar antara 27°C sampai dengan 34°C pada 4 minggu pertama. Rata-rata perubahan temperatur pasir berada di dalam kondisi *mesofil* walaupun terdapat

beberapa media pasir yang mengalami kenaikan suhu lebih dari 40°C. Temperatur pasir mengalami kenaikan suhu pada minggu keempat dan kelima di mana suhu tertinggi mencapai suhu 39°C untuk minggu keempat dan 42°C untuk minggu kelima. Suhu tersebut masih tergolong ke dalam temperatur optimal untuk biodegradasi, seperti menurut Department of Energy and the Petroleum Environmental U.S. (2002) yang menyatakan bahwa suhu optimal untuk biodegradasi berkisar antara 65-115° Fahrenheit (F) atau 18-45°C.

Pola perubahan temperatur antara setiap metode serupa satu dengan yang lainnya, namun suhu pada pasir tanpa pengaruh pasang surut cenderung lebih tinggi daripada pasir dengan pengaruh pasang surut. Hal ini dapat disebabkan karena terjadi penurunan temperatur pada pasir dengan pasang surut akibat pengaruh air laut yang memiliki suhu lebih rendah.

Peningkatan temperatur dapat terjadi akibat adanya aktivitas mikroorganisme yang mendegradasi hidrokarbon. Akan tetapi, jika dibandingkan dengan suhu udara ambien, terlihat bahwa perubahan temperatur pasir serupa dengan perubahan temperatur ambien dan serupa pula dengan temperatur udara di luar reaktor (Gambar 4.12). Pada penelitian ini, pasir dimasukkan ke dalam reaktor kaca yang memiliki tutup. Dimungkinkan bahwa panas dari udara di luar reaktor masuk ke dalam reaktor yang meningkatkan temperatur udara ambien di dalam reaktor dan temperatur pasir. Akan tetapi, karena reaktor tertutup maka panas dari dalam reaktor lebih sulit terbawa keluar. Hal ini yang menyebabkan suhu di dalam reaktor cenderung lebih tinggi daripada suhu udara luar. Hal ini pula yang dapat menyebabkan suhu pasir menjadi tinggi karena panas dari udara luar reaktor yang masuk ke dalam reaktor. Peristiwa ini menggambarkan bahwa perubahan temperatur pada pasir dipengaruhi oleh temperatur udara luar reaktor, sehingga kondisi temperatur kurang dapat menggambarkan tingkat aktivitas mikroba pada saat itu.



Gambar 4. 12 Perubahan Temperatur Ambien

Sumber : Pengolahan Penulis

4.6.2.4 Nutrisi

Nutrisi merupakan salah satu faktor penting yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk dapat bertahan hidup di alam. Menurut Pagoray (2009), nutrisi yang dibutuhkan yaitu karbon, nitrogen dan fosfor. Unsur-unsur karbon, nitrogen dan fosfor yang tersedia di lingkungan digunakan mikroba untuk pertumbuhan. Nitrogen merupakan unsur yang berperan dalam pertumbuhan, memperbanyak sel dan pembentukan dinding sel. Fosfor merupakan komponen utama asam nukleat dan lemak sel membran yang berperan dalam proses pemindahan energi. Fosfor selain digunakan untuk transport energi, juga penting untuk pertumbuhan mikroba, dan pembentukan asam amino.

Jika suatu lingkungan terkontaminasi minyak, maka kandungan karbon dalam lingkungan tersebut akan meningkat. Hal ini menyebabkan perubahan komposisi yang besar antara karbon dengan nitrogen dan fosfor. Oleh karena itu, penambahan nitrogen dan fosfor diperlukan untuk menyeimbangkan komposisi nutrisi yang baik bagi mikroba.

Kebanyakan eksperimen laboratorium telah menunjukkan bahwa penambahan nutrisi, yakni nitrogen dan fosfor, dapat meningkatkan laju biodegradasi. Akan tetapi, jenis dan konsentrasi nutrisi optimal bervariasi bergantung pada komposisi minyak dan kondisi lingkungan (Zhu *et al.*, 2001).

Hasil analisis rasio C:N:P di akhir penelitian ini ditunjukkan pada Tabel 4.9. Dari analisis mengenai rasio C:N:P tersebut terlihat bahwa secara keseluruhan rasio tersebut menurun dari rasio pada awal penelitian yakni 100:10:1. Hal ini disebabkan karena unsur-unsur nutrisi yang diberikan pada awal penelitian telah dimetabolisme oleh mikroba sehingga pada akhir penelitian kadar nutrisi tersebut lebih kecil dibandingkan awal penelitian.

Tabel 4. 10 Rasio C:N:P Pasir di Akhir Penelitian

Jenis Perlakuan		%			Rasio C:N:P
		C	N	P	
Bioestimulasi	Pasang Surut	3,48	0,31	0,060	58,47:5,21:1
Bioaugmentasi		3,65	0,32	0,061	59,62:5,23:1
Blanko		4,04	0,33	0,085	47,39:3,81:1
Bioestimulasi	Tanpa Pasang Surut	3,34	0,30	0,069	48,23:4,33:1
Bioaugmentasi		3,20	0,26	0,081	39,43:3,2:1
Blanko		3,49	0,30	0,072	48,59:4,18:1

Sumber : Pengolahan Balai Penelitian Tanah Bogor (2011)

Pada pasir dengan pengaruh pasang surut terlihat bahwa rasio C:N:P terkecil dimiliki oleh blanko. Berdasarkan penurunan TPH, blanko dengan pasang surut menunjukkan penurunan TPH paling kecil dibandingkan metode biostimulasi dan bioaugmentasi. Hal ini mengindikasikan bahwa penurunan TPH pada pasir dengan pengaruh pasang surut disebabkan karena kandungan minyak terbawa arus pasang surut tersebut.

Pada pasir tanpa pengaruh pasang surut, rasio C:N:P terkecil dimiliki oleh metode bioaugmentasi di mana metode bioaugmentasi tersebut memiliki penurunan TPH yang paling besar dibandingkan dengan sampel lainnya yaitu metode biostimulasi dan blanko. Hal ini menunjukkan bahwa komposisi nutrisi cukup bagi mikroba tersebut untuk tumbuh dan mendegradasi hidrokarbon.

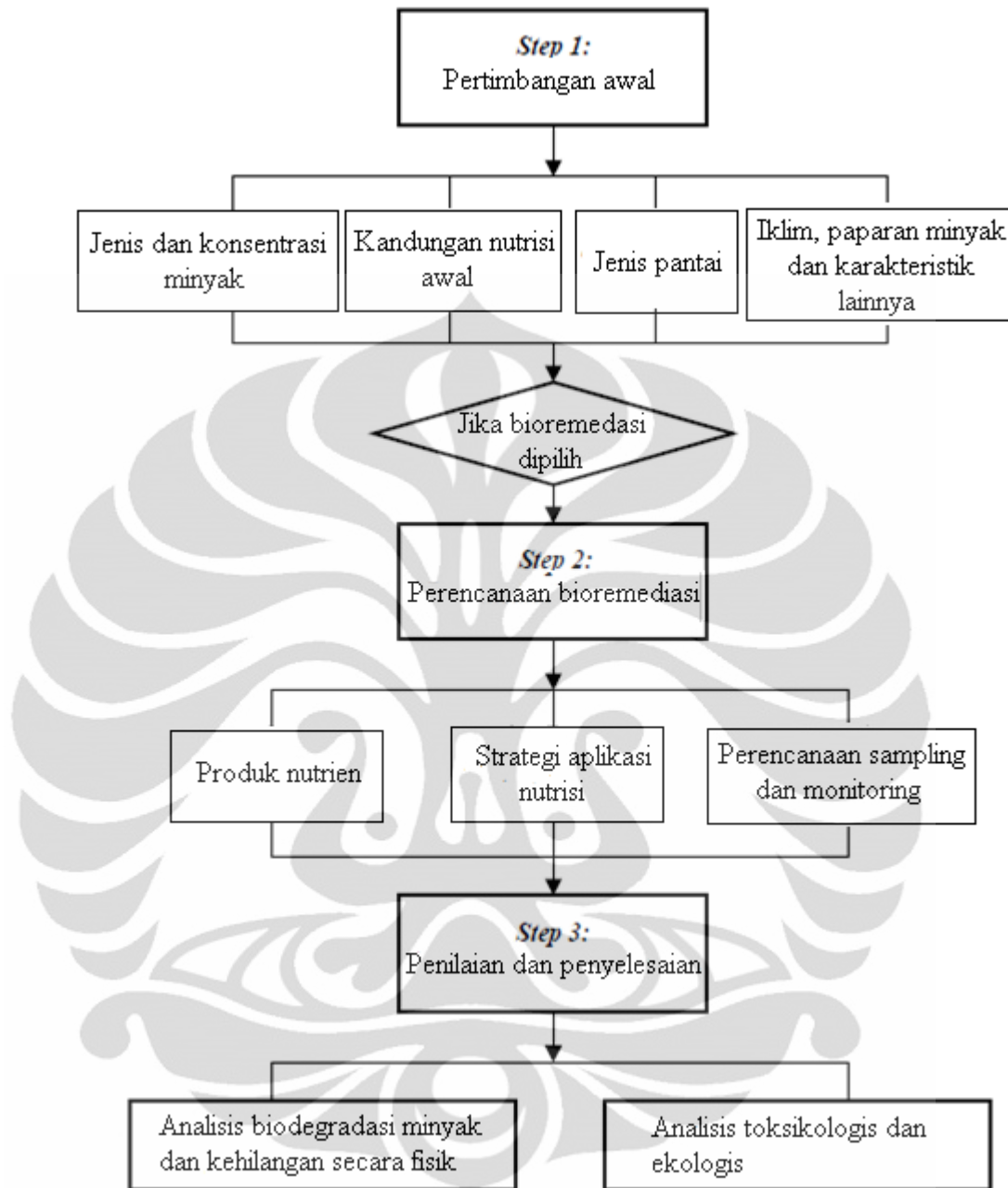
Secara keseluruhan, rasio C:N:P di akhir penelitian diketahui telah menurun dan rasio optimum yang ditetapkan di awal penelitian yaitu 100:10:1. Kondisi ini yang kemungkinan menyebabkan degradasi TPH tidak mengalami penurunan yang signifikan terutama sekitar 4 minggu terakhir. Hal ini mengindikasikan bahwa komposisi yang ada sudah tidak optimal bagi pertumbuhan mikroba sehingga mikroba tersebut tidak dapat lagi mendegradasi hidrokarbon dengan baik.

4.6.3 Mikroba

Jumlah mikroba yang digunakan dalam penelitian bioremediasi dengan metode bioaugmentasi kali ini berkisar antara $(4,39 - 25,7) \times 10^6$ CFU/ml volume inokulum. Data ini didukung oleh penelitian yang dilakukan Pagoray (2009) yang menggunakan bakteri dengan kisaran jumlah $3.1 \times 10^5 - 1.5 \times 10^8$ CFU/ml dan mampu mendegradasi TPH antara 55,00 % - 91,15 %.

4.7 Desain Bioremediasi

Pengolahan lahan tercemar minyak dengan memanfaatkan mikroorganisme telah diketahui sebagai salah satu upaya yang paling efektif dibandingkan dengan pengolahan secara fisik maupun kimia. Mikroorganisme membutuhkan karbon sebagai salah satu sumber nutrisi untuk dapat hidup, di mana sumber ini terkandung di dalam minyak. Kemampuan mikroorganisme dalam mendegradasi minyak merupakan salah satu peristiwa degradasi biotik di lingkungan yang mempengaruhi sifat persisten suatu kontaminan di dalam lingkungan. Namun, dalam aplikasinya di lapangan diperlukan *assessment* atau pertimbangan bagaimana proses bioremediasi ini dapat diterapkan. Oleh U.S. EPA, prosedur umum atau perencanaan dalam pemilihan dan aplikasi teknologi bioremediasi diilustrasikan dalam Gambar 4.13.



Gambar 4. 13 Prosedur untuk Menentukan dan Mengaplikasikan Boremediasi Tumpahan Minyak

Sumber : U.S.EPA : Guidelines for the Bioremediation of Marine Shorelines and Freshwater Wetlands (2001)

4.7.1 Pertimbangan Awal

Berdasarkan USEPA (2001), tahapan ini mencakup evaluasi apakah bioremediasi merupakan pilihan pengolahan yang sesuai berdasarkan jenis minyak yang tumpah, konsentrasinya, dan kehadiran mikroorganisme pendegradasi minyak,

konsentrasi nutrisi dasar, jenis pantai yang tercemar, dan faktor-faktor lingkungan lainnya (pH, temperatur, ketersediaan oksigen, lokasi lahan tercemar, akses menuju lahan tercemar dan akses logistik, dan sebagainya).

Jenis dan konsentrasi minyak yang mencemari lahan mempengaruhi kemampuan mikroorganisme untuk mendegradasi minyak tersebut. Ditemukan bahwa laju dan tingkat biodegradasi dari komponen yang dapat terdegradasi (seperti n-alkanes) menurun akibat meningkatnya fraksi yang tidak dapat terdegradasi (seperti resins dan asphaltenes). Oleh karena itu, *crude oil* dengan kandungan yang lebih berat lebih sulit terdegradasi dibandingkan dengan *crude oil* yang lebih ringan (Zhu *et al.*, 2001). Menurut Department of Energy and the Petroleum Environmental (2003), komposisi minyak mempengaruhi bioremediasi di mana fraksi yang lebih besar dari komponen yang berat (atau API gravity lebih rendah) akan mengurangi konsentrasi minyak yang dapat didegradasi. Selain itu, konsentrasi minyak juga menjadi pertimbangan dalam bioremediasi. Konsentrasi hidrokarbon yang rendah tidak cukup bagi mikroba untuk didegradasi, sedangkan konsentrasi yang tinggi dapat menyebabkan efek toksik.

Walaupun bakteri pada umumnya memiliki kemampuan untuk mendegradasi limbah seketika setelah adanya pencemaran, namun kebanyakan bakteri membutuhkan adaptasi sebelum dapat mendegradasi secara efektif. Jika populasi bakteri alami tidak mampu untuk beradaptasi dengan kehadiran kontaminan atau jika proses adaptasi berlangsung sangat lambat, penambahan mikroorganisme lainnya dapat dilakukan.

Nutrisi merupakan faktor penting bagi mikroorganisme untuk dapat bertahan hidup. Kondisi nutrisi yang telah ada di wilayah yang tercemar minyak penting untuk diketahui dalam rangka untuk dapat menentukan apakah nutrisi tersebut cukup bagi mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon dan apakah diperlukan penambahan nutrisi untuk mencukupi kebutuhan nutrisi bagi mikroorganisme.

Penelitian mengenai jenis pantai penting untuk mengetahui energi gelombang atau pasang surut, karakteristik sedimen, dan geomorfologi sedimen (Zhu *et al.*, 2001). Minyak dapat larut akibat gelombang atau pasang surut air laut. Arus pasang surut

juga dapat membawa nutrisi dari wilayah bioremediasi. Akan tetapi, energi gelombang yang tinggi dapat meningkatkan ketersediaan oksigen di wilayah tercemar minyak sehingga membantu proses aerasi. Zhu *et al.* (2001) menyebutkan bahwa dalam suatu penelitian bioremediasi pantai tercemar minyak menunjukkan efektifitas bioremediasi yang berbeda dari dua jenis pantai dengan sedimen yang berbeda.

Wilayah pantai yang terbuka sangat dipengaruhi oleh cuaca yang akan mempengaruhi pertumbuhan dan kinerja mikroorganisme, serta karakteristik minyak. Zhu *et al.* (2001) menyatakan bahwa pada suhu rendah, viskositas minyak akan meningkat dan menunda proses degradasi.

4.7.2 Perencanaan Bioremediasi

Setelah diputuskan bahwa pengolahan lahan tercemar minyak akan dilakukan dengan proses bioremediasi, pertimbangan lebih lanjut dan perencanaan diperlukan sebelum bioremediasi dapat diaplikasikan. Tahap ini mencakup pemilihan agen atau faktor pembatas (misalnya nutrisi), menentukan strategi aplikasi faktor pembatas, dan perencanaan desain *sampling* dan *monitoring*.

Menurut *Engineering Center Final Report SBF* (2005), karbon, nitrogen, dan fosfor dibutuhkan untuk pertumbuhan sel dan biosintesis unsur-unsur pokok dari mikroba. Saat limbah didegradasi dengan metabolisme, penambahan sumber karbon sekunder seringkali dibutuhkan untuk pertumbuhan sel dan pendukung aktivitas mikroba. Pada saat limbah digunakan sebagai sumber karbon dan energi, nitrogen dan fosfor juga dibutuhkan. Pada lingkungan akuatik, nitrogen dan fosfor merupakan faktor pembatas.

Zhu *et al.* (2001) menyatakan bahwa pemilihan nutrisi bergantung pada beberapa faktor lingkungan, seperti suhu, energi pantai, dan substrat. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Lee *et al.* (1993 dalam Zhu *et al.*, 2001) diindikasikan bahwa pada suhu di atas 15°C, *slow release fertilizer* dapat bertahan lebih lama dan meningkatkan degradasi minyak dibandingkan *water-soluble fertilizer*. Pada wilayah pantai yang terkena pasang surut, penggunaan nutrisi *slow release*

fertilizer akan lebih efektif untuk mencegah nutrisi terbawa gelombang pasang surut.

Setelah ditentukan jenis nutrisi apa yang dibutuhkan, selanjutnya diperlukan pertimbangan mengenai konsentrasi dan komposisi nutrisi yang akan diberikan, frekuensi penambahan nutrisi yang diperlukan, dan bagaimana cara atau metode penambahan nutrisi tersebut. Variabel-variabel penting di lapangan perlu diukur dan dimonitor untuk mengetahui kondisi lahan, penurunan TPH, jumlah nutrisi dan mikroba, dan pengaruh lingkungan lainnya seperti temperatur dan pH. Pengukuran ini membutuhkan metode-metode pengukuran yang sesuai dan terkadang membutuhkan pertimbangan statistik.

Syarat pengolahan limbah dan tanah terkontaminasi minyak bumi secara biologis berdasarkan Kepmen LH No. 128 Tahun 2003 adalah sebagai berikut :

- Daerah bebas banjir
- Bukan daerah genangan air sepanjang tahun
- Bukan merupakan aliran sungai intermitten
- Bukan daerah resapan atau sumber mata air
- Bukan daerah yang dilindungi
- Jauh dari lokasi pemukiman berjarak minimum 300 m
- Sesuai dengan tata ruang yang sudah ditentukan
- Kondisi hidrogeologi memenuhi ketentuan:
 - Struktur geologi bersifat stabil
 - Lokasi pengolahan terletak di lahan datar atau dengan kemiringan maksimum 12%
 - Kedalaman air tanah di lokasi tersebut minimum 4 meter dari lapisan terbawah unit pengolahan
 - Tekstur tanah tidak memiliki porositas tinggi (lahan dengan tekstur tanah berpasir sebaiknya tidak digunakan sebagai lokasi pengolahan).

Jika wilayah terkontaminasi minyak tidak memenuhi satu atau lebih kriteria di atas, maka pengolahan sebaiknya dilakukan secara *ex-situ*. Syarat fasilitas pengolahan berdasarkan Kepmen LH No. 128 Tahun 2003 adalah :

- Di atas tanah unit tempat pengolahan dilapisi tanah lempung dengan ketebalan minimum 60 cm setelah dipadatkan dan memenuhi batas permeabilitas (K) minimum adalah 10^{-5} cm/detik.
- Lahan dengan permeabilitas (K) lebih besar dari 10^{-5} cm/detik harus dilengkapi dengan bahan pelapis tambahan berupa HDPE (high density polyethylene) dengan ketebalan minimum 1.5 mm atau bahan pelapis lainnya yang memenuhi persyaratan.
- Saluran drainase dirancang di sekeliling unit lokasi pengolahan untuk mengontrol larinya air luapan.
- Arah aliran air luapan tersebut diatur sehingga aliran menuju ke kolam penampungan.
- Konstruksi saluran drainase dan kolam penampung air luapan harus kedap air dan mampu mengakomodasikan volume curah hujan maksimum.
- Tanggul dibangun di sekeliling unit lokasi pengolahan untuk mencegah luapan air hujan yang masuk pada waktu curah hujan tertinggi (jika saluran drainase tidak mencukupi luapan air hujan).
- Sumur pantau air tanah dipasang minimum 2 (dua) buah yang terletak secara representatif di daerah hulu dan hilir dari unit lokasi pengolahan yang disesuaikan dengan arah aliran air tanah.
- Sumur pantau air tanah tidak diperlukan jika data hidrogeologis mendukung terjaminnya permeabilitas yang sangat rendah, baik dari segi kedalaman air tanah maupun struktur geologi lahan.
- Pagar pengaman atau pembatas di sekeliling lokasi unit pengolahan dipasang untuk menghindari masuknya pihak yang tidak berkepentingan.
- Tanda-tanda peringatan dipasang untuk menjaga aspek keselamatan dan keamanan

4.7.3 Penilaian dan Penyelesaian

Setelah pengolahan diimplementasikan berdasarkan perencanaan, diperlukan penilaian terhadap keberhasilan pengolahan dan menentukan pengolahan akhir yang tepat berdasarkan analisis kimia, toksikologi, dan ekologi.

Menurut Zhu *et al.* (2001), efektifitas biodegradasi diukur berdasarkan : (1) kecepatan hilangnya kandungan minyak pada wilayah yang diremediasi dibandingkan dengan wilayah tanpa remediasi, dan (2) hilangnya kandungan minyak di wilayah tersebut dikarenakan oleh biodegradasi. Untuk mengevaluasi performa bioremediasi dengan lebih baik, hal yang harus dipertimbangkan adalah membedakan antara *physical loss* dengan *biodegradative loss*. Untuk mempertimbangkan hal ini dibutuhkan *mass balance*. Akan tetapi, informasi mengenai hal ini cukup terbatas pada seberapa besar studi dan aplikasi bioremediasi di lapangan yang disebabkan oleh terbatasnya program monitoring yang komprehensif, alat pengukur yang dapat diandalkan, dan interpretasi data yang tepat.

Pada dasarnya, bioremediasi memberikan efek merusak lebih kecil dibandingkan dengan pengolahan fisik dan kimia. Akan tetapi, diperlukan penelitian terhadap efek yang dihasilkan dari dilakukannya proses bioremediasi di lapangan, yang mungkin muncul akibat hasil sampingan dari proses degradasi berupa zat-zat yang dikhawatirkan lebih toksik dibandingkan dengan kontaminan yang diolah.

4.7.4 Aplikasi Bioremediasi

Berdasarkan kondisi penelitian bioremediasi yang telah dilakukan, desain bioremediasi dapat diaplikasikan di lapangan dengan penyesuaian terhadap metode *landfarming*. Proses bioremediasi yang diaplikasikan adalah metode *ex-situ* sehingga tidak ada pengaruh pasang surut air laut. Dalam aplikasi desain bioremediasi di lapangan, diperlukan tahapan-tahapan yang mencakup :

1. Persiapan

Persiapan untuk melaksanakan aplikasi bioremediasi antara lain terdiri dari persiapan mikroba, lahan, nutrisi berdasarkan kebutuhan dan persyaratan yang telah ditentukan sebelumnya. Jumlah mikroba yang dibutuhkan berdasarkan U.S.EPA *Landfarming* (1994) adalah lebih dari 1000 CFU/gram berat kering tanah atau pasir. Mikroba yang digunakan terlebih dahulu dibiakkan dan merupakan mikroba yang telah teruji mampu mendegradasi hidrokarbon.

Luas lahan yang diperlukan didapatkan dengan cara membagi jumlah sedimen yang akan diolah dengan ketebalan sedimen. Berdasarkan pengukuran *bulk density* yang telah dilakukan dalam penelitian ini, diketahui bahwa *bulk density* pasir terkontaminasi minyak adalah $1,226 \text{ gr/cm}^3$. Jika berat pasir terkontaminasi minyak yang akan diolah sebanyak 1000 ton (10^9 gram) maka volume pasir terkontaminasi adalah :

$$V = \frac{10^9 \text{ gr}}{1,226 \text{ gr/cm}^3} = 815,66 \text{ m}^3$$

Berdasarkan U.S.EPA *Landfarming* (1994), tebal tanah berkisar antara 12 – 18 inci atau 0,3 – 0,46 m. Karena porositas pasir yang telah diukur pada saat penelitian cukup tinggi yaitu 33,33% sehingga asupan oksigen dapat lebih mudah terpenuhi, maka tebal pasir ditentukan 0,4 meter. Sehingga, luas lahan yang dibutuhkan adalah :

$$\text{Area} = \frac{815,66 \text{ m}^3}{0,4 \text{ m}} = 2039,15 \text{ m}^2$$

Jika konsentrasi kontaminan sesuai dengan penelitian bioremediasi ini yaitu 5% dan diasumsikan CH_2 , maka kadar minyak dari pasir terkontaminasi minyak sebanyak 1000 ton adalah 50 ton atau 50.000 kg. Jika diasumsikan pada pasir sebelumnya tidak terkandung karbon, maka konsentrasi karbon menjadi :

$$C = \frac{12}{14} \times 50 \text{ ton} = 42,86 \text{ ton}$$

Jika digunakan rasio C:N:P = 100:10:1, maka rasio nutrisi yang dibutuhkan adalah :

$$C : N : P = 42,86 : 4,28 : 0,428$$

P berasal dari NPK dengan perbandingan (N : P : K) 26 : 6 : 10

$$6\% \text{ NPK} = 0,428$$

$$\text{NPK} = \frac{0,428}{6\%} = 7,13 \text{ ton}$$

$$\begin{aligned}
 N \text{ yang berasal dari NPK} &= 26\% \times \text{NPK} \\
 &= 26\% \times 7,13 \text{ ton} \\
 &= 1,85 \text{ ton}
 \end{aligned}$$

Maka N dari Urea

$$\begin{aligned}
 N_{\text{total}} &= N_{\text{NPK}} + N_{\text{Urea}} \\
 N_{\text{Urea}} &= 4,28 - 1,85 = 2,43 \text{ ton}
 \end{aligned}$$

Karena kandungan Nitrogen dalam Urea adalah 46%, maka urea yang digunakan
 $= \frac{2,43 \text{ ton}}{46\%} = \mathbf{5,27 \text{ ton}}$

Oleh karena itu, jumlah nutrisi yang dibutuhkan adalah 7,13 ton NPK dan 5,27 ton Urea.

2. Pembuatan Fasilitas Bioremediasi

Konstruksi fasilitas bioremediasi *landfarming* terdiri dari :

- Persiapan lahan dengan melakukan pengerukan lahan, pembersihan, dan membuat tingkatan
- *Berms* sebagai pengontrol aliran air hujan
- Sistem pengumpul dan pengolah *leachate*
- Fasilitas pengolah emisi udara jika dibutuhkan
- Perlengkapan unit aerasi untuk mencukupi kebutuhan oksigen
- Sistem manajemen suplai air untuk memenuhi kebutuhan air terutama saat kondisi kering dan menampung kelebihan air saat curah hujan tinggi
- Sistem kontrol erosi dengan membuat sistem *wondrows*, sistem manajemen air, dan penyiraman untuk mengurangi debu

3. Persiapan Pasir Terkontaminasi

Sebelum pasir yang terkontaminasi dimasukkan ke dalam unit pengolahan, terlebih dahulu dilakukan pengolahan awal. Pengolahan ini antara lain adalah penambahan nutrisi dan mikroba sesuai kebutuhan yang telah ditentukan, pencampuran sehingga didapatkan pasir dengan kandungan yang homogen, dan kontrol pH sehingga pH selalu berada pada batas yang sesuai. Kemudian, pasir

tersebut dimasukkan ke dalam unit bioremediasi yang telah disiapkan dengan ketebalan lahan yang telah ditentukan yaitu 0,4 m.

4. Penambahan Nutrisi dan Penyesuaian pH

Penambahan nutrisi dan *buffer* umumnya tidak hanya dilakukan di awal proses bioremediasi. Oleh karena itu, nutrisi dan *buffer* perlu ditambahkan secara berkala dengan menggunakan alat seperti *sprinkler* atau secara manual.

5. Pengukuran

Secara berkala dilakukan pengukuran-pengukuran terhadap faktor pendukung bioremediasi seperti pH, kadar air, nutrisi, dan temperatur. Dilakukan pula pengukuran terhadap kondisi yang menentukan laju degradasi seperti TPH dan pertumbuhan mikroorganisme.

6. Penanganan Akhir

Berdasarkan Kepmen LH No. 128 Tahun 2003, terdapat beberapa cara penanganan hasil olahan setelah proses pengolahan, yaitu :

Tabel 4. 11 Beberapa Cara Penanganan Hasil Olahan Setelah Proses Pengolahan

No.	Konsentrasi TPH	Kegiatan Penanganan	Keterangan
1.	> 2%	Proses pengolahan dilanjutkan	Sampai memenuhi kriteria
2.	1% - 2%	Landfill kategori III	Sesuai Kepdal 04/1995
3.	≤ 1%	a. Penempatan pada lahan khusus dan terbatas	Ditanami tumbuhan yang non konsumsi
		b. Pemanfaatan	Bahan pencampur lapisan jalan, material bangunan dan lain-lain.

Sumber : Kepmen LH No. 128 Tahun 2003

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

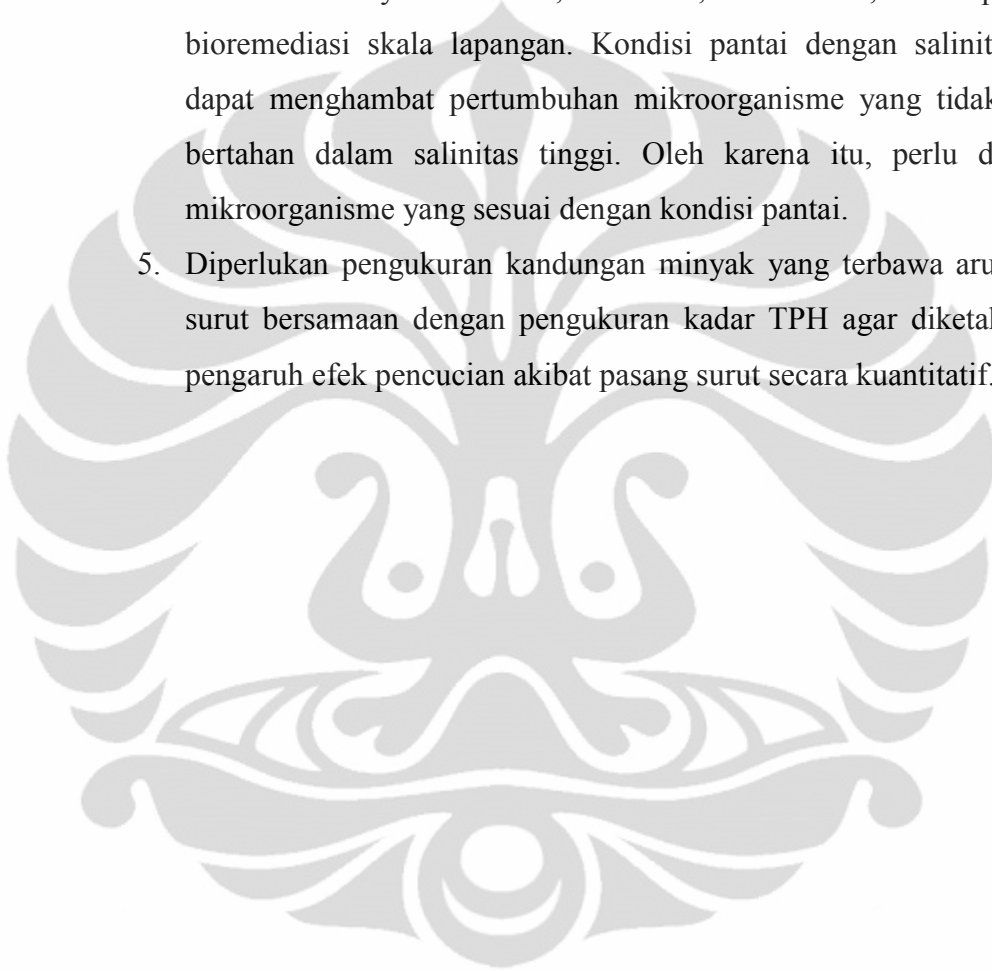
5.1 Kesimpulan

1. Penambahan nutrisi pada metode biostimulasi dapat meningkatkan proses degradasi hidrokarbon di pantai. Proses bioremediasi pantai tercemar minyak tanpa pasang surut dengan metode biostimulasi dapat menurunkan TPH sampai 3,5% dari 5% selama 7 minggu.
2. Penambahan mikroba pada metode bioaugmentasi dapat meningkatkan proses degradasi hidrokarbon dibandingkan dengan metode biostimulasi. Proses bioremediasi pantai tercemar minyak tanpa pasang surut dengan metode bioaugmentasi dapat menurunkan TPH sampai 2,4% dari 5% selama 8 minggu. Namun berdasarkan Kepmen LH No. 128 Tahun 2003, kadar TPH dari metode biostimulasi dan bioaugmentasi yang dilakukan selama 7 minggu tersebut belum memenuhi baku mutu yang ditetapkan yaitu 1%.
3. Metode bioaugmentasi dapat mempercepat proses degradasi hidrokarbon oleh mikroba, karena dengan adanya penambahan mikroba maka jumlah dan biodiversitas mikroba di lingkungan tersebut menjadi semakin besar. Hal ini dapat meningkatkan laju degradasi hidrokarbon.
4. Arus pasang surut berpengaruh terhadap penurunan kadar minyak pada pantai terkontaminasi minyak. Proses bioremediasi pada pantai tercemar minyak dengan pasang surut dapat menurunkan TPH sampai 2,19% dari 5% selama 7 minggu. Pada pasir dengan pengaruh pasang surut, penurunan TPH akibat aspek pencucian oleh gelombang pasang surut lebih besar dibandingkan akibat degradasi mikroba.

5.2 Saran

1. Hasil penelitian bioremediasi dengan membandingkan metode biostimulasi dan metode bioaugmentasi serta pengaruh pasang surut ini

2. perlu diuji coba di lapangan (lingkungan pantai) yang terkontaminasi minyak.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai jenis mikroba di lingkungan pantai yang paling potensial untuk proses bioremediasi.
4. Diperlukan optimasi terhadap faktor-faktor yang berperan dalam bioremediasi yaitu nutrisi, salinitas, kadar air, dan pH pada bioremediasi skala lapangan. Kondisi pantai dengan salinitas tinggi dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang tidak mampu bertahan dalam salinitas tinggi. Oleh karena itu, perlu digunakan mikroorganisme yang sesuai dengan kondisi pantai.
5. Diperlukan pengukuran kandungan minyak yang terbawa arus pasang surut bersamaan dengan pengukuran kadar TPH agar diketahui besar pengaruh efek pencucian akibat pasang surut secara kuantitatif.



DAFTAR REFERENSI

- A Summary of the DOE/PERF Bioremediation Workshop*. 2002. U.S. : Department of Energy and the Petroleum Environmental.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 1999. *Total Petroleum Hydrocarbons (TPH)*. U.S. Department of Health and Human Service, Public Health Service.
- Atlas, Ronald and James Bragg. 2009. *Bioremediation of Marine Oil Spills: When and When Not – the Exxon Valdez Experience*. Microbial Biotechnology.
- Baker, K.H. dan Herson, D.S. 1994. *Bioremediation*. USA : McGraw-Hill, Inc.
- Bengen, D. G. 2002. *Sinopsis ekosistem dan sumberdaya alam pesisir dan laut serta prinsip pengelolaannya*. PKSPL IPB. Bogor.
- Bishop, P. L. 1983. *Marine Pollution and It's Control*. New York : McGaw-Hill Book Co.
- Caltex Pasific Indonesia. 2005. *Final Report Detailed Engineering Design Soil Bioremediation Facility Libo & Pematang*. Engineering Center, Universitas Indonesia
- Cho, Young-Gyun, Sung-Keun Rhee, dan Sung-Talk Lee. 2000. *Enfluence of Environmental Parameters on Bioremediation of Chlorophenol-Contaminated Soil by Indigenous Microorganisms*. Korean Society of Environmental Engineers.
- Cunningham, C. J dan J. C. Philip. 2000. *Comparison of Bioaugmentation and Biostimulation in Ex Situ Treatment of Diesel Contaminated Soil*. Land Contamination & Reclamation Journal, 8 (4).
- Dahuri, R., Rais, J., Ginting, S.P., Sitepu, M.J. 1996. *Pengelolaan Sumberdaya Pesisir dan Lautan Secara terpadu*. Jakarta : Pradnya Paramita.

- Diposaptono, S. 2007. *Karakteristik Laut Pada Kota Pantai*. Direktorat Bina Pesisir, Direktorat Jendral Urusan Pesisir dan Pulau-pulau Kecil. Departemen Kelautan dan Perikanan. Jakarta.
- Dutta, Subijoy. 2002. *Environmental Treatment Technologies for Hazardous and Medical Waste*. New Delhi : Tata McGraw Hill.
- Fermiani, F. 2003. *Pengolahan Tanah Terkontaminasi Minyak dengan Teknik Bioremediasi di Lapangan Minas, PT. Caltex Pasific Indonesia*. Bogor : Pusat Kajian Sumber Daya Pesisir dan Lautan, Institut Pertanian Bogor.
- Gosalam, S., Akbar T., dan Silvana J.L. 2008. *Uji Kemampuan Bakteri dari Perairan dalam Mendegradasi Senyawa Minyak Solar*. Jurnal Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin.
- Lasari, D.P. 2010. *Bakteri, Pengolah Limbah Minyak Bumi yang Ramah Lingkungan*. Kementrian Energi dan Sumber Daya Mineral. Diakses tanggal 18 November 2010 dari <http://www.esdm.go.id/news-archives/56-artikel/3507-bakteri-pengolah-limbah-minyak-bumi-yang-ramah-lingkungan.html>
- Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. *Uji Coba Teknik Bioremediasi di Pantai Berpasir Tercemar Minyak di Cilacap*. Arsip Kegiatan Penelitian Laboratorium dan Lapangan di bidang Peneliti Ilmu Hayati (biologi). Diakses tanggal 7 Oktober 2010 dari <http://www.lipi.go.id/www.cgi.htm>.
- Margesin, R dan F. Schinner. 2001. *Biodegradation and Bioremediation of Hydrocarbon in Extreme Environments*. Appl Microbiol Biotechnol.
- Marzuki, C. 1999. *Metodologi Riset*. Jakarta : Erlangga.
- Misran, Erni. 2002. *Aplikasi Teknologi Berbasiskan Membran dalam Bidang Bioteknologi Kelautan: Pengendalian Pencemaran*. Program Studi Teknik Kimia Universitas Sumatera Utara.
- Novita, Evy, Irma Gusniani dan Sri Diah Handayani. 2009. *Modul Praktikum Mikrobiologi Lingkungan [ENV31006]*. Depok : Laboratorium Teknik

Penyehatan dan Lingkungan Program Studi Teknik Lingkungan.
Universitas Indonesia

Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Dasar. 2008. Purwokerto : Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman.

Pramudiarja, U. 2010. "Bakteri Memakan Tumpahan Minyak di Teluk Meksiko." *detikHealth*. 27 Agustus 2010. Diakses tanggal 12 November 2010 dari <http://www.detikhealth.com/read/2010/08/27/131559/1429308/763/bakteri-memakan-tumpahan-minyak-di-teluk-meksiko.htm>.

Wulan, Praswasti PDK, Misri Gozan, Berly Arby dan Bustomy Achmad. 2008. *Penentuan Optimum C:N:P Sebagai Nutrisi Pada Proses Biodegradasi Benzena-Toluena dan Scale Up Kolom Bioregenerator*. Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia.

Speight, J.G. 1991. *The Chemistry and Technology of Petroleum*. New York : Marcel Dekker Inc.

Sunarko, Bambang. 2001. *Beberapa Pendekatan Riset Bioremediasi*. Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI No. 3 Vol. 15.

Susilorukmi, Ambar., L. Sriwuryandari, dan T. Sembiring. 2005. *Aplikasi Mikroorganisme untuk Bioremediasi Oil Spill Sistem Dua Tahap*. Pusat Penelitian Fisika-LIPI (LIPI Press) Vol. 28: 29-37.

Suyasa, I. W. Budiarsa. 2007. *Isolasi Bakteri Pendegradasi Minyak/Lemak dari Beberapa Sedimen Perairan Tercemar dan Bak Penampung Limbah*. Pusat Penelitian Lingkungan Hidup Universitas Udayana.

Wahyuni, N.D. 2010. "Kerugian Tumpahan Minyak di Laut Timor Capai Rp 10 Triliun." *Detik Finance*. 25 Agustus 2010. Diakses tanggal 3 November 2010 dari <http://www.detikfinance.com/read/2010/08/25/130434/1427595/4/kerugian-tumpahan-minyak-di-laut-timor-capai-rp-10-triliun.htm>.

Wyrtki, K. 1961. *Physical Oceanography of the South East Asian Waters*. Naga Report Vol. 2 Scripps. California : Institute Oceanography.

Zhu, Xueqing, Albert D. Venosa, Makram T. Suidan, and Kenneth Lee. 2001. *Guidelines for the Bioremediation of Marine Shorelines and Freshwater Wetlands*. Cincinnati : U.S. Environmental Protection Agency.

Pagoray, Henny. 2009. *Biostimulasi dan Bioaugmentation untuk Bioremediasi Limbah Hidrokarbon serta Analisis Keberlanjutan*. Institut Pertanian Bogor.



Lampiran 1. Data Total Petroleum Hydrocarbons

Jenis Perlakuan	minggu 1	minggu 2	minggu 3	minggu 4	minggu 5	minggu 6	minggu 7	minggu 8
Na1	4,9	4,046	3,084	3,012	3,006	2,994	2,952	2,13
Nb1	4,882	4,536	4,396	4,336	3,846	3,804	3,762	3,758
NMa1	4,98	3,684	3,508	3,378	3,046	3,02	2,528	2,468
NMb1	5,046	4,358	4,258	3,922	2,4	2,376	2,154	2,108
Blanko a1	4,952	4,242	3,646	3,644	3,598	3,346	3,266	3,056
Blanko b1	5,2	4,942	4,912	4,878	4,724	4,608	4,584	4,24
Na2	5,076	4,044	3,87	2,902	2,552	2,472	2,152	2,694
Nb2	5,098	4,904	4,628	4,246	3,622	3,614	3,59	3,244
NMa2	4,982	3,852	2,832	2,574	2,162	2,06	1,928	1,91
NMb2	5,094	4,892	4,42	4,322	4,012	3,878	3,542	2,658
Blanko a2	5,042	4,008	3,572	3,536	3,442	3,426	2,846	2,864
Blanko b2	5,34	4,818	4,688	4,364	4,356	4,408	4,334	3,916
Biostimulasi a	4,988	4,045	3,477	2,957	2,779	2,733	2,552	2,412
Biostimulasi b	4,99	4,72	4,512	4,291	3,734	3,709	3,676	3,501
Bioaugmentasi a	4,981	3,768	3,17	2,976	2,604	2,54	2,228	2,189
Bioaugmentasi b	5,07	4,625	4,339	4,122	3,206	3,127	2,848	2,383
Blanko a	4,997	4,125	3,609	3,59	3,52	3,386	3,056	2,96
Blanko b	5,27	4,88	4,8	4,621	4,54	4,508	4,459	4,078

Sumber Pengolahan Penulis

Lampiran 2. Data Hasil Pengukuran pH

Jenis Perlakuan	minggu 1	minggu 2	minggu 3	minggu 4	minggu 5	minggu 6	minggu 7	minggu 8
Na1	7,33	8,42	7	7,5	7,5	8	8,5	8,5
Nb1	7,59	7,5	7,5	6,5	7	7,5	7,5	7,5
NMa1	8,51	8,24	7,5	7,5	8	8	8	8
NMb1	8,46	8,53	7	7	7	7,5	7,5	7
Blanko a1	7,31	7,33	7,5	7	7,5	8	8	8
Blanko b1	7,13	8,11	7,5	7	7,5	7,5	7,5	7,5
Na2	8,81	8,46	7	7	7,5	8	8	8,5
Nb2	7,79	7,91	7,5	6,5	7	7,5	7,5	7
NMa2	8,64	8,3	7,5	7	7,5	8	8	8
NMb2	8,53	8,69	8	7	7,5	7,5	7,5	7
Blanko a2	7,3	7,35	7,5	6,5	7	7,5	8	8
Blanko b2	7,37	8,22	7,5	7	7	7,5	7,5	7
Biostimulasi a	8,07	8,44	7	7,25	7,5	8	8,25	8,5
Biostimulasi b	7,69	7,705	7,5	6,5	7	7,5	7,5	7,25
Bioaugmentasi a	8,575	8,27	7,5	7,25	7,75	8	8	8
Bioaugmentasi b	8,495	8,61	7,5	7	7,25	7,5	7,5	7
Blanko a	7,305	7,34	7,5	6,75	7,25	7,75	8	8
Blanko b	7,25	8,165	7,5	7	7,25	7,5	7,5	7,25

Sumber Pengolahan Penulis

Lampiran 3. Data Hasil Pengukuran Kadar Air

Jenis Perlakuan	Awal	Minggu ke-8
nb1	20,9217	17,7220
nb2	19,0384	14,7927
nmb1	19,6508	20,3604
nmb2	21,3597	20,4139
blankob1	19,4735	15,1058
blankob2	18,6573	14,3158
biostimulasi	19,9801	16,2573
bioaugmentasi	20,5052	20,3872
blanko	19,0654	14,7108

Sumber Pengolahan Penulis

Lampiran 4. Data Hasil Pengukuran Temperatur

Jenis perlakuan	Bulan	Februari				Maret			
	Tanggal	Minggu 1	Minggu 2	Minggu 3	Minggu 4	Minggu 5	Minggu 6	Minggu 7	Minggu 8
	Jam	13.30	9.47	10.00	11.00	14.50	14.45	13.00	11.30
	Cuaca	Cerah	Mendung	Cerah	Gerimis	Panas	Cerah	Cerah	Cerah
	Tambien	31	28,5	29,5	28,5	34,5	34	31	32
Na1	Tpasir	32	27,5	33	27	38	41	30	30
	Tudara	33	27,5	31,5	29	38,5	39,5	33	30
Na2	Tpasir	33,5	28	33	27,5	38	40,5	30	29
	Tudara	34	28	31,5	30	38,5	40,5	33	30
Biostimulasi a	Tpasir	32,75	27,75	33	27,25	38	40,75	30	29,5
	Tudara	33,5	27,75	31,5	29,5	38,5	40	33	30
Nma1	Tpasir	34	27,5	33	27	38,5	40	30	29
	Tudara	34	27,5	31,5	29,5	37,5	39,5	32	30,2
Nma2	Tpasir	33	27,5	33	27	38,5	40	30	29
	Tudara	33,5	28	31	29	38	40	32	30,5
Bioaugmentasi a	Tpasir	33,5	27,5	33	27	38,5	40	30	29
	Tudara	33,75	27,75	31,25	29,25	37,75	39,75	32	30,35
Blanko a1	Tpasir	33,5	27,5	32,5	27,5	38	40	31	30
	Tudara	34	28	30,5	29,5	37	39	33	30,2
Blanko a2	Tpasir	33,5	28	33	27,5	39,5	42	30	30
	Tudara	34	28	31	30	38	40	32,5	30,5
Blanko a	Tpasir	33,5	27,75	32,75	27,5	38,75	41	30,5	30
	Tudara	34	28	30,75	29,75	37,5	39,5	32,75	30,35

Sumber Pengolahan Penulis

Lampiran 5. Data Hasil Perhitungan Kadar Minyak secara Gravimetri

	Kadar minyak (gr/50 ml)	Kadar minyak (mg/l)
Biostimulasi	0,09	1,8
Bioaugmentasi	0,1016	2,032
Blanko	0,0771	1,542

Sumber Pengolahan Penulis

Lampiran 6. Gambar Koloni Isolat Mikroba

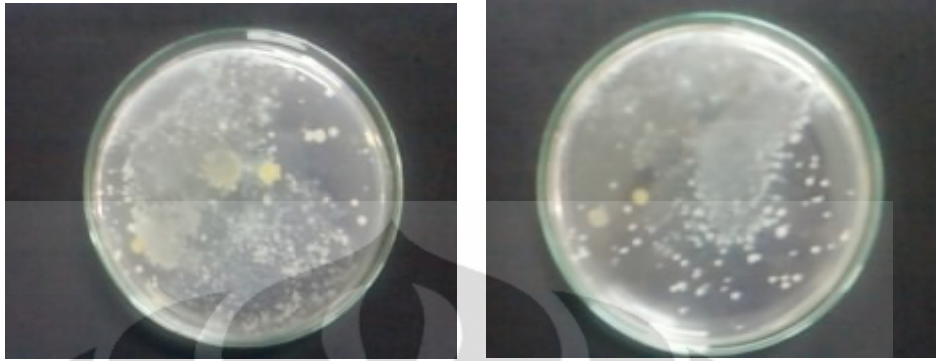


Foto 1. Koloni Isolat 3.1 a dan 3.1 b

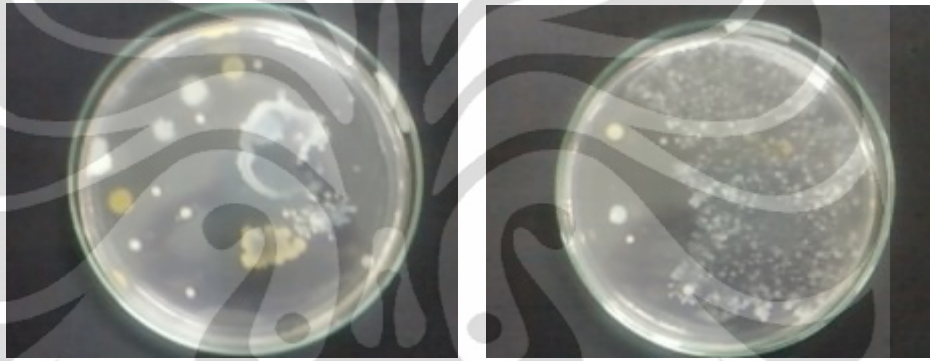


Foto 2. Koloni Isolat 4.1 a dan 4.1 b

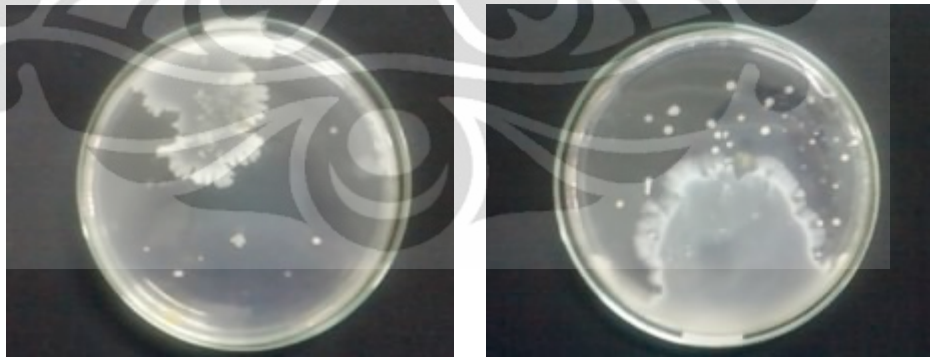


Foto 3. Koloni Isolat 5.1 a dan 5.1 b

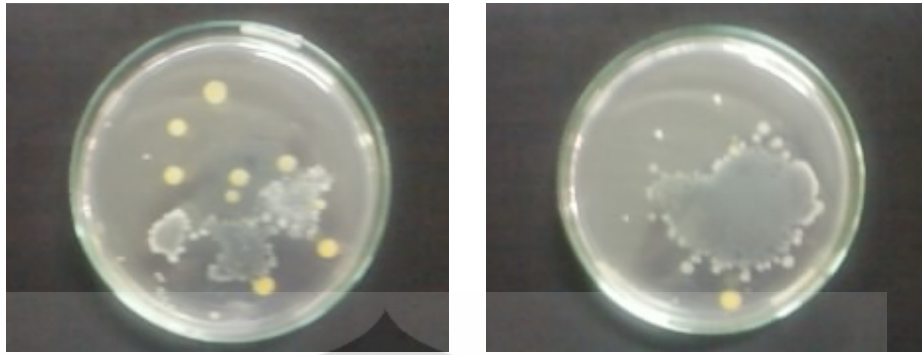


Foto 4. Koloni Isolat 2.2 a dan 2.2 b

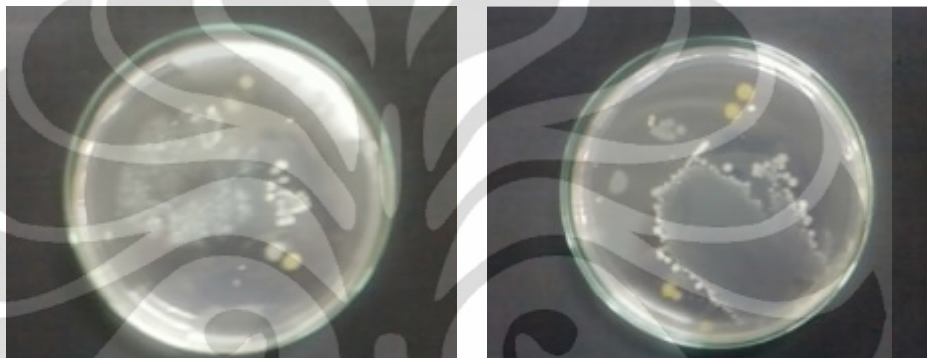


Foto 5. Koloni Isolat 3.2 a dan 3.2 b



Foto 6. Koloni Isolat 4.2 a dan 4.2 b

Sumber : Dokumentasi Penulis

Lampiran 7. Gambar Sel Isolat Mikroba

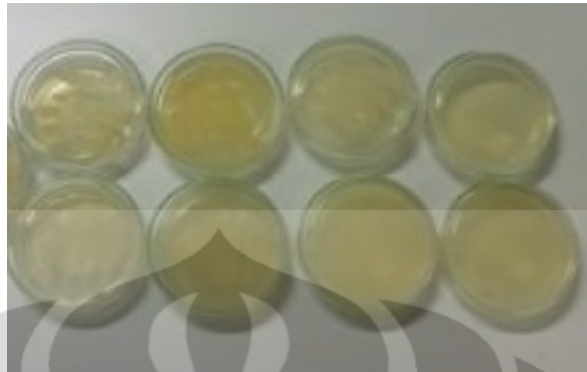


Foto 7. Isolat Kultur Murni

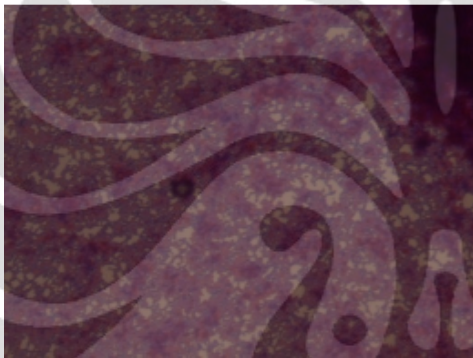


Foto 8. Isolat 3-1 a



Foto 10. Isolat 4-1 b



Foto 9. Isolat 3-1 b



Foto 11. Isolat 5-1 a



Foto 12. Isolat 2-2 b

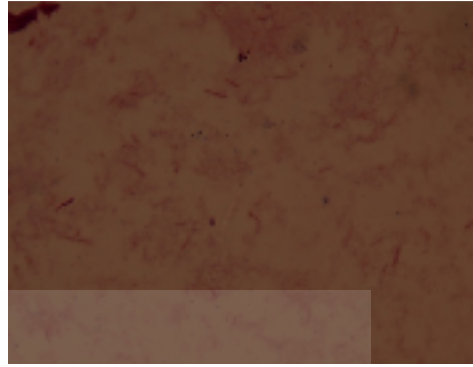


Foto 14. Isolat 3-2 b



Foto 13. Isolat 3-2 a



Foto 15. Isolat 4-2 a

Sumber : Dokumentasi Penulis

Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian



Foto 16. Penimbangan Pasir



Foto 20. Penambahan Mikroba



Foto 17. Penuangan Minyak



Foto 21 Pasir saat Mengalami Pasang



Foto 18. Alat Pengaduk

Foto 22. *Soxhlet Extractor*

Foto 19. Penambahan Nutrisi



Foto 23. Alat Destilasi

Sumber : Dokumentasi Penulis