

**BIODEGRADASI *SLUDGE* MINYAK BUMI
DALAM SKALA MIKROKOSMOS:
Simulasi Sederhana Sebagai Kajian Awal Bioremediasi *Land Treatment***

Astri Nugroho

Jurusan Teknik Lingkungan, Fakultas Arsitektur Lansekap dan Teknologi Lingkungan
Universitas Trisakti, Jakarta 11440, Indonesia

E-mail: astri@fun-dering.com

Abstrak

Telah dilakukan penelitian skala mikrokosmos yang bertujuan untuk melakukan uji kemampuan konsorsium mikroba hidrokarbonoklastik untuk meningkatkan degradasi *sludge* minyak bumi dengan perlakuan penambahan pupuk NPK sebagai sumber nitrogen. Percobaan secara aerobik dilakukan dengan meletakkan erlenmeyer pada *shaker incubator* dengan kecepatan putaran 120 rpm pada temperatur 50°C. Pengamatan selama 150 hari pada skala mikrokosmos menunjukkan konsorsium mampu tumbuh dengan baik hingga beban *sludge* mencapai 50% (v/v). Pertumbuhan maksimum dan laju pertumbuhan maksimum konsorsium dalam medium cair terjadi pada perlakuan III C (penambahan 50% (v/v) substrat dalam bentuk *sludge* minyak bumi dan penambahan nitrogen dalam bentuk pupuk NPK sebanyak 30% (b/v) dan substrat yang ditambahkan. Hingga hari ke-150 semua perlakuan terdegradasi di atas 64%. Degradasi tertinggi terjadi pada perlakuan III A diikuti oleh perlakuan III C, masing-masing sebesar 88,72% dan 87,19%. Hasil analisis kromatografi gas menunjukkan bahwa pada t_{15} dan t_{30} muncul senyawa C_8 dan C_9 yang kemudian menghilang kembali setelah hari ke-30. Senyawa C_{10} meningkat pada t_{30} sedangkan mulai dari C_{11} hingga C_{17} secara berangsur-angsur kelimpahannya semakin menurun. Penurunan terbesar terjadi pada C_{14} , yaitu semula 85,28% menjadi 43,11%. Di akhir penelitian berhasil diidentifikasi 7 jenis bakteri, dan 5 jenis di antaranya bergenus *Bacillus* yang bersifat aerobik.

Abstract

Crude Oil Sludge Degradation in Microcosmic Scale: Simple Simulation as Preliminary Study on Land Treatment Bioremediation. A study in microcosmic condition has been carried out to evaluate the bacterial hydrocarbonoclastic capability in increasing the oil sludge degradation being mixed with NPK fertilizer as nitrogen resources. Aerobic test was carried out by putting erlenmeyers in a shaker incubator, 120 rpm shaking speed, at 50°C temperature. While 150 days in microcosmic one observation showed that the consortium has the potential to grow up to 50% (v/v) sludge oil load. Maximum growth and maximum growth rate of the consortium occurred in the III C treatment (by adding 50% (v/v) sludge oil and by mixing nitrogen in the form of NPK fertilizer amounting 30% (w/v) of added substrat. The observation showed that at the day 150, all the treatments were degraded above 64%. Highest degradation accured in the III A treatment followed by the III C treatment amounting 88.72% and 87.19% respectively. The gas chromatography analysis showed that at t_{15} and t_{30} , hydrocarbon C_8 and C_9 turned up and then vanished after t_{30} . Hydrocarbon do increased at t_{30} while the relative abundance of C_{11} up to C_{17} was decreasing gradually. The biggest decreasing of that was in C_{14} , as 85.28% before and 43.11% after. At the end of the study 7 species of bacteria were identified, 5 of them are of *Bacillus sp*, which are aerobical.

Keywords: microcosmic, hydrocarbon, degradation, gas chromatography analysis

1. Pendahuluan

Pencemaran lingkungan oleh minyak bumi dapat terjadi karena kecerobohan manusia, baik sengaja maupun tidak Chator dan Somerville [1], menjelaskan bahwa pencemaran minyak bumi di tanah merupakan ancaman yang serius bagi kesehatan manusia. Minyak bumi yang

mencemari tanah dapat mencapai lokasi air tanah, danau atau sumber air yang menyediakan air bagi kebutuhan domestik maupun industri sehingga menjadi masalah serius bagi daerah yang mengandalkan air tanah sebagai sumber utama kebutuhan air bersih atau air minum. Pencemaran minyak bumi, meskipun dengan konsentrasi hidrokarbon yang sangat rendah sangat mempengaruhi bau dan rasa air tanah.

Sebenarnya lingkungan itu sendiri memiliki kemampuan untuk mendegradasi senyawa-senyawa pencemar yang masuk ke dalamnya melalui proses biologis dan kimiawi. Namun, sering kali beban pencemaran di lingkungan lebih besar dibandingkan dengan kecepatan proses degradasi zat pencemar tersebut secara alami. Akibatnya, zat pencemar akan terakumulasi sehingga dibutuhkan campur tangan manusia dengan teknologi yang ada untuk mengatasi pencemaran tersebut.

Selain itu, Atlas [2] juga menjelaskan bahwa banyak senyawa-senyawa organik yang terbentuk di alam dapat didegradasi oleh mikroorganisme bila kondisi lingkungan menunjang proses degradasi tersebut. Artinya, pencemaran lingkungan oleh polutan-polutan organik dapat dengan sendirinya dipulihkan. Namun pada beberapa lokasi terdapat senyawa organik alami yang resisten terhadap biodegradasi sehingga senyawa tersebut akan terakumulasi di dalam perut bumi. Adanya deposit-deposit senyawa organik alami yang melimpah seperti bahan bakar fosil (BBF) dan petroleum terjadi karena bahan-bahan tersebut berada dalam kondisi lingkungan yang tidak menunjang terjadinya biodegradasi [3].

Pada suatu daerah tertentu, minyak bumi juga dapat bersifat rekalsitran. Hal itu dimungkinkan karena organisme perombak di lingkungan tersebut, termasuk mikroorganisme, belum pernah berhubungan dengan senyawa minyak bumi dalam proses evolusinya. Mikroorganisme perombak tidak mampu merombak minyak bumi tersebut karena tidak mempunyai enzim yang diperlukan.

Susunan senyawa yang kompleks, seperti minyak bumi menyebabkan suatu spesies tunggal mikroorganisme tidak dapat mendegradasi keseluruhan komponen penyusun minyak bumi tersebut, karena setiap spesies bakteri membutuhkan substrat yang spesifik. Beberapa bakteri yang berinteraksi saling menguntungkan dalam bentuk konsorsium sangat berperan selama berlangsungnya proses degradasi minyak bumi.

Bakteri dalam aktivitas hidupnya memerlukan molekul karbon sebagai salah satu sumber nutrisi dan energi untuk melakukan metabolisme dan perkembangbiakannya sedangkan senyawa non-hidrokarbon merupakan nutrisi pelengkap yang dibutuhkan untuk pertumbuhannya. Dari uraian di atas, Atlas dan Bartha [4] menyebutkan bahwa bakteri yang memiliki kemampuan mendegradasi senyawa hidrokarbon untuk keperluan metabolime dan perkembangbiakannya disebut kelompok bakteri hidrokarbonoklastik.

Secara fisika, pemulihan lingkungan yang tercemar oleh minyak bumi memerlukan biaya yang sangat tinggi

untuk pengangkutan dan pengadaan energi guna membakar materi yang tercemar. Selain itu, penanggulangan secara fisik umumnya digunakan pada langkah awal penanganan, terutama apabila minyak belum tersebar ke mana-mana. Penggunaan senyawa kimia sebagai penetralisir juga memakan biaya yang cukup besar. Selain itu, metode ini memerlukan teknologi dan peralatan canggih untuk menarik kembali bahan kimiawi dari lingkungan agar tidak menimbulkan dampak negatif yang lain [3].

Mengingat dampak pencemaran minyak bumi baik dalam konsentrasi rendah maupun tinggi cukup serius, maka manusia terus berusaha untuk mencari teknologi yang paling mudah, murah dan tidak menimbulkan dampak lanjutan. Menurut Gritter, dkk. [5] dari segi biaya dan kelestarian lingkungan, bioremediasi lebih murah dan berwawasan lingkungan dibandingkan dengan metode pemulihan lingkungan baik secara fisika maupun kimiawi. Biodegradasi dilakukan dengan cara memotong rantai hidrokarbon tersebut menjadi lebih pendek dengan melibatkan berbagai enzim. Sistem enzim-enzim tersebut dikode oleh kromosom atau plasmid, tergantung pada jenis bakterinya [6].

Dalam kaitannya dengan teknik bioremediasi *land treatment*, maka penelitian ini merupakan studi yang dilaksanakan dalam skala mikroskosmos dengan tujuan untuk melakukan uji kemampuan konsorsium mikroba untuk meningkatkan degradasi minyak bumi, khususnya lumpur minyak bumi di tanah. Hipotesisnya adalah dalam tanah yang terkontaminasi *sludge* minyak bumi terdapat beberapa jenis bakteri yang hidup bersama dalam bentuk konsorsium yang diduga memiliki kemampuan menggunakan minyak bumi secara langsung sebagai sumber karbon. Kemampuan ini dapat dipacu oleh kondisi lingkungan yang sesuai antara lain dengan penambahan sumber nitrogen.

2. Metodologi Penelitian

Bahan. Sampel yang digunakan adalah *sludge crude oil* yang diperoleh dari salah satu kontrak *production sharing* (KPS) di Kalimantan, sedangkan sebagai sumber isolat adalah konsorsium bakteri yang diperoleh dari tanah terkontaminasi *sludge* minyak bumi di sekitar industri minyak. Medium dasar yang digunakan adalah *Stone Mineral Salt Solution* (SMSS) [7]. Ekstrak ragi sebanyak 0,1% (b/v) ditambahkan ke dalam medium SMSS, kemudian pH diatur hingga berada pada nilai 6,8-7. Pupuk NPK produksi Norsk Hydro A.S. Norwegia yang mengandung unsur hara utama berupa 25% N, 7% P₂O₅ serta 7% K₂O digunakan sebagai sumber nitrogen tambahan.

Pembuatan mikroskosmos dan rancangan penelitian. Mikroskosmos adalah suatu model simulasi sederhana yang dibuat untuk menggambarkan teknik bioremediasi

land treatment di lapangan yang sesungguhnya. Untuk keperluan tersebut, mikrokosmos dibuat dari kotak-kotak kayu berukuran 30x30x30 cm dan diisi dengan tanah, *sludge* minyak bumi, pupuk NPK sebagai sumber nitrogen tambahan serta 10% berat sekam terhadap *sludge* minyak bumi, yang berfungsi sebagai *bulking agent*. Selain itu, ditambahkan pula sebanyak 10% (v/b) konsorsium bakteri yang telah terbukti memberikan degradasi *sludge* minyak bumi paling baik pada skala laboratorium.

Faktor-faktor yang diteliti meliputi berapa banyaknya *sludge* yang dapat didegradasi oleh konsorsium uji dan bagaimana rasio C : N yang dapat memberikan persentase degradasi *sludge* minyak bumi paling tinggi. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan pola faktorial, dengan kombinasi perlakuan seperti tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1 memberikan pengertian sebagai berikut:

- a) Banyaknya *sludge* minyak bumi yang akan didegradasi:
- I = sebanyak 10% (v/b)
 - II = sebanyak 25% (v/b)
 - III = sebanyak 50% (v/b)
- b) Rasio C : N, di mana C adalah banyaknya *sludge* minyak bumi dan N berasal dari pupuk NPK:
- A = rasio C : N = 10 : 1
 - B = rasio C : N = 10 : 2
 - C = rasio C : N = 10 : 3

Sebagai kontrol, dibuat 2 buah mikrokosmos sebagai berikut:

- K1 : 10% (v/b) *sludge* minyak bumi, rasio C : N = 10 : 1 tetapi tanpa penambahan konsorsium bakteri
- K2 : 10% (v/b) *sludge* minyak bumi, ditambah 10% konsorsium bakteri, tetapi tanpa penambahan pupuk NPK

Dalam penelitian ini diasumsikan bahwa mikroklimat ruang pertumbuhan (*growth chamber*) atau kondisi lingkungan penelitian bersifat tetap, yaitu temperatur berkisar 24-28°C, kelembaban udara berkisar 60-70% serta densitas cahaya sekitar 4500-5000 lux.

Tabel 1. Kombinasi perlakuan pada skala mikrokosmos, dengan penambahan 10% (v/b) konsorsium bakteri

| Sludge minyak bumi | Rasio C : N | | |
|--------------------|-------------|----------|------------|
| | A (10: 1) | B (10:2) | C (10 : 3) |
| I (10%) | IA | IB | IC |
| II (25%) | IIA | IIB | IIC |
| III (50%) | IIIA | IIIB | IIIC |

Pengukuran Variabel Degradasi. Variabel yang diukur untuk mengindikasikan terjadinya degradasi minyak bumi meliputi variabel mikrobiologis, fisik, dan kimia, sebagai berikut:

Pengukuran Variabel Mikrobiologis. Secara mikrobiologis, terjadinya degradasi minyak bumi dapat diduga dengan menghitung jumlah sel bakteri setiap satuan waktu serta mengukur *fluorescen diacetate* (FDA) yang terhidrolisis. FDA perlu diukur karena medium kultur tidak homogen sehingga penghitungan secara tidak langsung dengan mengukur nilai kerapatan (*Optical Density*/OD) menjadi tidak akurat. Prinsip penggunaan FDA adalah kemampuan FDA untuk berikatan dengan enzim intraseluler dan beberapa enzim ekstraseluler seperti protease, lipase, dan esterase untuk menghasilkan fluoresensi yang dapat dibaca nilai OD-nya. Konsentrasi FDA yang terhidrolisis berkorelasi dengan jumlah sel. Semakin banyak jumlah FDA yang terhidrolisis, maka semakin banyak jumlah sel yang terkandung dalam kultur [4].

Pengukuran Variabel Fisik. Variabel fisik yang diukur di awal dan di akhir penelitian, yaitu berat minyak bumi sisa dan analisis viskositas.

- **Viskositas *sludge* minyak bumi**

Viskositas *sludge* minyak bumi dianalisis dengan metode Ostwald .

- **Berat *sludge* minyak bumi**

Berat *sludge* minyak bumi dari semua variasi perlakuan baik pada skala laboratorium maupun skala mikrokosmos di awal dan akhir penelitian ditimbang setelah terlebih dahulu dipisahkan dari medium cair maupun tanah dengan menggunakan pelarut n-pentana. Persentase penurunan berat *sludge* minyak bumi selama uji perlakuan menunjukkan persentase degradasi yang terjadi.

Pengukuran Variabel Kimia. Variabel kimia diperoleh dengan melakukan analisis *Gas Chromatography/Mass Spectrometer* (GC/MS) di Laboratorium Proses Pusat Penelitian dan Pengembang Teknologi Minyak dan Gas Bumi (LEMIGAS), Jakarta. Sebagai data pendukung, dilakukan pengukuran pH setiap kali pengambilan sampel.

Identifikasi Isolat Bakteri. Isolat-isolat bakteri yang telah dimurnikan akan diidentifikasi secara mikrobiologis dengan melakukan pengamatan morfologi koloni, morfologi sel, dan uji biokimia. Kultur murni bakteri yang berumur 24 jam digunakan untuk identifikasi. Hasil pengamatan dicocokkan dengan kunci determinasi bakteri dalam buku "*Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*" [9].

3. Hasil dan Pembahasan

Pola Pertumbuhan Konsorsium. Konsorsium yang dipergunakan berada pada kondisi sangat aktif, yaitu berada pada fase eksponensial, dengan jumlah sel tidak kurang dari 10^6 sel/ml. Penambahan konsorsium bakteri dan penambahan pupuk sebagai sumber nitrogen mutlak dilakukan untuk memperoleh rasio C: N yang memberikan persentase degradasi paling tinggi. Kelompok bakteri pendegradasi membentuk pola pertumbuhan yang berfluktuasi. Fluktuasi ini terjadi sebagai akibat terjadinya suksesi dalam ekosistem tersebut.

Tidak seperti halnya penelitian di laboratorium, maka penelitian skala mikrokosmos melibatkan 3 kelompok bakteri, yaitu kelompok bakteri yang memang sudah ada dalam *sludge* minyak bumi, kelompok bakteri *zymogenous* dalam bentuk konsorsium yang telah aktif hasil penelitian laboratorium, serta kelompok bakteri atau kultur campuran yang hidup di tanah, yang disebut bakteri *indigenus*. Dengan demikian, akan terjadi interaksi di antara ketiga kelompok bakteri tersebut untuk memanfaatkan *sludge* minyak bumi dan sumber nitrogen.

Setelah melewati masa adaptasi atau mulai hari ke-30 hingga hari ke-150, maka semua perlakuan menunjukkan pertumbuhan yang cukup baik. Secara keseluruhan, perlakuan dengan penambahan 50% *sludge* minyak bumi menunjukkan pertumbuhan konsorsium yang lebih baik dibandingkan perlakuan dengan penambahan 10% atau 25% *sludge* minyak bumi. Diduga populasi bakteri yang mendominasi proses berasal dari konsorsium bakteri yang memang telah teradaptasi dalam memanfaatkan *sludge* minyak bumi. Dalam hal ini tampaknya konsorsium uji mampu mendukung 50% polutan dalam bentuk *sludge* minyak bumi. Hasil penelitian Walker dan Colwell (1974, dalam [1]) menyebutkan keanekaragaman dan kelimpahan mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon yang terdapat di alam memiliki hubungan yang linier dengan peningkatan kadar polusi hidrokarbon.

Perubahan Nilai pH. Hasil pengukuran nilai pH selama 150 hari pengamatan menunjukkan bahwa nilai pH tanah tidak selalu bersifat asam. Pada hari ke-40 hingga hari ke-80 rata-rata 5 dari 9 perlakuan menunjukkan terjadi peningkatan nilai pH hingga cenderung bersifat basa.

Terjadinya peningkatan pH pada penelitian mikrokosmos diduga disebabkan oleh adanya kemampuan bakteri dalam melakukan respon toleransi asam dengan mekanisme pompa hidrogen. Beberapa bakteri memiliki kemampuan untuk melakukan upaya homeostatis terhadap keasaman lingkungan sebatas masih dalam toleransi adaptasinya. Caranya dengan

melakukan pertukaran kation K^+ dari dalam sel dan menukarnya dengan H^+ yang banyak terdapat di lingkungannya, sehingga keasaman lingkungan dapat dikurangi [1].

Pada umumnya semua perlakuan juga mengalami penurunan nilai pH. Penurunan nilai pH tersebut diduga disebabkan oleh aktivitas konsorsium bakteri yang membentuk metabolit-metabolit asam. Biodegradasi alkana yang terdapat dalam minyak bumi akan membentuk alkohol dan selanjutnya menjadi asam lemak. Asam lemak hasil degradasi alkana akan dioksidasi lebih lanjut membentuk asam asetat dan asam propionat, sehingga dapat menurunkan nilai pH medium [7].

Analisis Viskositas. Hasil analisis viskositas (Tabel 2) menunjukkan bahwa terjadi penurunan viskositas *sludge* minyak bumi pada semua perlakuan. Secara umum, penurunan viskositas paling besar terjadi pada perlakuan III C sebesar 51,45%.

Diikuti secara berturut-turut oleh III B sebesar 49,41% dan III A sebesar 48,34%. Penurunan viskositas pada semua perlakuan ini diduga berkaitan erat dengan terbentuknya fraksi-fraksi sederhana sebagai hasil dari suatu proses. Menurut [6] adanya penurunan viskositas menunjukkan suatu proses, dalam hal ini proses degradasi, telah berlangsung.

Proses degradasi tersebut akan menghasilkan fraksi yang lebih sederhana dalam jumlah banyak. Banyaknya fraksi sederhana tersebut menyebabkan penurunan nilai viskositas *sludge* minyak bumi. Terbentuknya gas CO_2 sebagai hasil degradasi akan bereaksi dengan sebagian fraksi minyak bumi dan menyebabkan minyak bumi menjadi mengembang sehingga viskositasnya akan menurun [10].

Persentase Degradasi Sludge Minyak Bumi. Pada peristiwa biodegradasi minyak bumi, substrat yang dapat dipastikan menurun konsentrasinya adalah senyawa hidrokarbon. Perubahan berat minyak bumi

Tabel 2. Hasil analisis viskositas (Cst)

| Perlakuan | t 0 | t 150 | % penurunan |
|-----------|-------|-------|----------------|
| I A | 12,60 | 7,88 | 37,46% |
| I B | 12,57 | 7,93 | 36,91% |
| I C | 12,59 | 8,44 | 32,96% |
| II A | 12,45 | 7,29 | 41,45% |
| II B | 12,55 | 7,24 | 42,31% |
| II C | 12,57 | 7,15 | 43,12% |
| III A | 12,68 | 6,89 | 48,34% |
| III B | 12,75 | 6,45 | 49,41% |
| III C | 12,77 | 6,20 | 51,45% |

setelah didegradasi oleh bakteri dapat ditimbang dengan cara gravimetri [5].

Hasil penelitian menunjukkan keberadaan konsorsium bakteri menghasilkan persentase degradasi *sludge* minyak yang lebih besar dibandingkan dengan *sludge* minyak bumi steril yang bebas mikroorganisme.

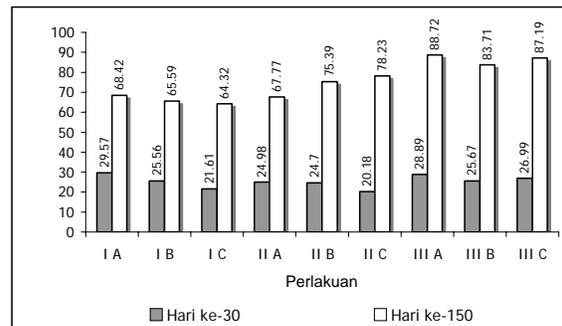
Pada akhir fase adaptasi pertama (hari ke-30) persentase degradasi tertinggi terjadi pada perlakuan I A, yaitu sebesar 29,57%. Hal tersebut disebabkan karena pemanfaatan *sludge* minyak bumi oleh konsorsium bakteri belum berlangsung secara efektif. Diduga kelompok bakteri yang mendominasi mikrokosmos adalah kelompok mikroba indigenous yang tidak dapat memanfaatkan *sludge* minyak bumi untuk pertumbuhannya.

Gambar 1 menunjukkan bahwa hingga hari ke-150, semua perlakuan memberikan persentase degradasi di atas 64%. Namun demikian, semua perlakuan III memberikan persentase degradasi yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya, yaitu sebesar lebih dari 83%. Secara berturut-turut persentase degradasi tertinggi terjadi pada perlakuan III A sebesar 88,72% diikuti III C sebesar 87,9% dan yang terakhir perlakuan III B memberikan persentase degradasi sebesar 81,71%.

Walker dan Colwell (1974, dalam [1]) menyebutkan keanekaragaman dan kelimpahan mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon yang terdapat di alam memiliki hubungan yang linier dengan peningkatan kadar polusi hidrokarbon. Hal ini berarti konsorsium bakteri dalam perlakuan ini (perlakuan dengan penambahan *sludge* minyak bumi paling banyak) dapat memanfaatkan *sludge* minyak bumi sedemikian rupa sehingga kelimpahannya semakin meningkat. Dengan demikian proses degradasi hidrokarbon berlangsung efektif yang dibuktikan dengan semakin tingginya persentase degradasi yang dihasilkan.

Selain itu, kondisi lingkungan fisik seperti temperatur dan aerasi serta faktor mekanik seperti pengadukan juga sangat mempengaruhi besarnya persentase degradasi. Menurut Doerffer [11] senyawa hidrokarbon yang tertumpah di alam akan mengalami degradasi secara alamiah karena faktor-faktor lingkungan, meskipun laju degradasinya berlangsung lambat. Proses degradasi tersebut meliputi penguapan, teremulsi dalam air, teradsorpsi pada partikel padat, tenggelam dalam perairan serta mengalami biodegradasi oleh mikroba pengguna hidrokarbon. Temperatur dapat menyebabkan terjadi penguapan hidrokarbon, terutama senyawa berberat molekul rendah yang biasanya bersifat toksik [6].

Pada penelitian di laboratorium, pengocokan medium dapat berlangsung lebih efektif karena menggunakan



Keterangan:

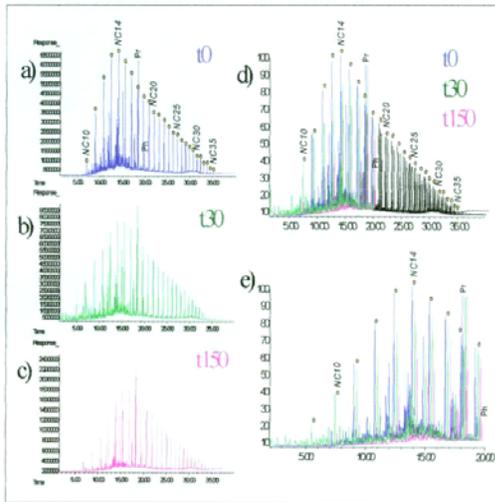
- I A : 10% C, N sebesar 10% dari C
- I B : 10% C, N sebesar 20% dari C
- I C : 10% C, N sebesar 30% dari C
- II A : 25% C, N sebesar 10% dari C
- II B : 25% C, N sebesar 20% dari C
- II C : 25% C, N sebesar 30% dari C
- III A : 50% C, N sebesar 10% dari C
- III B : 50% C, N sebesar 20% dari C
- III C : 50% C, N sebesar 30% dari C

Gambar 1. Persentase degradasi *sludge* minyak bumi

shaker incubator, tidak demikian halnya dengan penelitian skala mikrokosmos. Faktor pengadukan mikrokosmos secara manual diperkirakan menyebabkan pencampuran antara tanah sebagai media, *sludge* minyak bumi sebagai sumber polutan serta konsorsium bakteri dalam mikrokosmos kurang homogen. Oleh karena itu, suplai oksigen menjadi kurang efektif. Hal ini pun dapat mempengaruhi besarnya persentase degradasi.

Hasil Analisis Kromatografi Gas. Aktivitas mikroba dalam mendegradasi *sludge* minyak bumi dilakukan dengan memotong-motong komponen hidrokarbon alifatik yang berantai panjang serta mentransformasikan senyawa hidrokarbon aromatik, sehingga *sludge* minyak bumi tersebut akan memperlihatkan perubahan komposisi fraksi hidrokarbon penyusunnya [12]. Oleh karena itu, untuk melengkapi analisis yang telah ada, penelitian ini dilengkapi pula dengan analisis kromatografi gas. Kromatogram hasil analisis kromatografi gas untuk sampel III C diperlihatkan pada Gambar 2. Berdasarkan kromatogram tersebut, secara umum maka pada hari ke-30 terjadi penurunan luas area puncak yang terdeteksi pada waktu tambat 10 sampai 20 menit (Gambar 2 d.) dibandingkan dengan hari ke-0 (Gambar 2 a).

Hal-hal yang menarik dari kromatogram ini adalah pada hari ke-30 tersebut muncul puncak-puncak kecil yang menandakan hadirnya senyawa-senyawa baru pada waktu tambat 5 sampai 9 menit yang sebelumnya tidak terdeteksi pada hari ke-0 (Gambar 2 b). Peningkatan itu diduga merupakan hasil degradasi senyawa berberat molekul tinggi yang tidak terdeteksi oleh kromatografi



Keterangan:

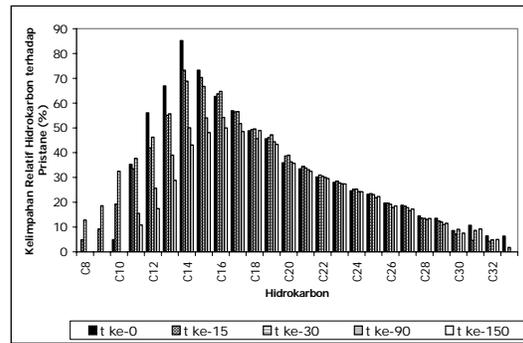
- a) = komposisi hidrokarbon sampel III C hari ke-0
- b) = komposisi hidrokarbon sampel III C hari ke-30
- c) = komposisi hidrokarbon sampel III C hari ke-150
- d) = *overlay* hari ke-30 dan hari ke-150 terhadap hari ke-0
- e) = *overlay* hari ke-30 dan hari ke-150 terhadap hari ke-0 yang di-*cropping* untuk hidrokarbon < C₁₈

Gambar 2. Kromatogram hasil analisis kromatografi gas hasil degradasi *sludge* minyak bumi

gas atau merupakan kumpulan fraksi hasil degradasi senyawa-senyawa yang mengalami penurunan luas area puncak [5]. Menurut [13] pula senyawa-senyawa tersebut memiliki berat molekul rendah karena muncul pada waktu tambat yang lebih awal dan merupakan isomer-isomer alkana bercabang. Mekanisme terbentuknya senyawa-senyawa itu tidak dapat dijelaskan pada penelitian ini.

Pada hari ke-150 puncak-puncak yang pada hari ke-30 terdeteksi pada waktu tambat 3-9 mulai menghilang kembali. Selain itu terjadi pula penurunan luas area puncak pada waktu tambat 10-20 menit. Naik dan turunnya luas area puncak ini menandakan telah terjadi perubahan komposisi hidrokarbon sebagai hasil dari suatu proses degradasi. Selanjutnya, persentase degradasi hidrokarbon dalam bentuk kelimpahan relatif melalui analisis kromatogram ini akan dihitung berdasarkan luas area puncak senyawa hidrokarbon dibandingkan dengan luas area pristane, seperti disajikan pada Gambar 3 dan Tabel 3.

Gambar 3 tersebut memberikan informasi bahwa pada hari ke-15 terdeteksi senyawa baru C₈ dan C₉ yang semula tidak terdeteksi pada hari ke-0 masing-masing kelimpahan relatifnya terhadap pristane adalah sebesar



Gambar 3. Perubahan komposisi hidrokarbon mulai t ke-0 hingga t ke-150

4,86% dan 9,14%. Kelimpahan relatif ini terus meningkat sampai hari ke-30, yaitu C₈ meningkat menjadi 12,78%, sedangkan C₉ meningkat menjadi 18,56%.

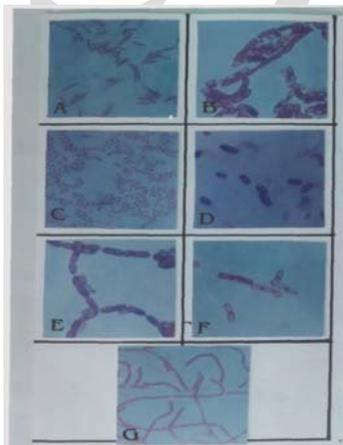
Sharpley [12] menyebutkan bahwa terjadinya pemutusan ikatan-ikatan hidrokarbon fraksi berat menjadi hidrokarbon fraksi ringan menyebabkan hidrokarbon fraksi ringan dapat bertambah banyak. Setelah hari ke-30 hingga hari ke-150, C₈ dan C₉ tidak terdeteksi lagi.

Pada hari ke-15 senyawa alkana linier C₁₀ merupakan senyawa yang juga mengalami peningkatan kelimpahan relatif paling besar seperti halnya hasil penelitian di laboratorium. Kelimpahan relatif ini meningkat 4 kali lipat. Namun demikian, senyawa C₁₀ ini tidak terdeteksi lagi pada hari ke-90 dan hari ke-150. Tidak terdeteksinya C₈ hingga C₁₀ setelah hari ke-30 disebabkan oleh peralatan kromatografi gas yang kurang sensitif atau kelimpahannya yang sangat kecil hingga kurang dapat dideteksi dengan baik atau memang sudah tidak terdapat sama sekali. Menurut [6] senyawa alkana dengan jumlah atom karbon kurang dari 14 dapat tereduksi melalui proses *weathering*.

Secara umum semua hidrokarbon rantai pendek lainnya, mulai dari C₁₁ hingga C₁₇ secara berangsur-angsur kelimpahan relatifnya semakin menurun seiring dengan berjalannya waktu. Penurunan terbesar terjadi pada C₁₄, yaitu semula 85,28% menjadi 43,11%. Senyawa C₁₈ hingga C₃₃ relatif tidak mengalami perubahan kelimpahan relatif. Atlas [2] menjelaskan bahwa hanya sedikit jenis bakteri yang dapat mendegradasi hidrokarbon yang memiliki percabangan atau struktur cincin, karena hidrokarbon semacam itu sukar untuk masuk ke dalam sel, sedangkan Harayama [6] menguraikan bahwa senyawa hidrokarbon dengan berat molekul tinggi sukar didegradasi karena memiliki kelarutan yang rendah sehingga tidak mudah memasuki membran sel.

Tabel 3. Kelimpahan relatif Hidrokarbon terhadap Pristane

| | t ke-0 | t ke-15 | t ke-30 | t ke-90 | t ke-150 |
|-----|---------|---------|---------|---------|----------|
| C8 | | 4.8571 | 12.7796 | | |
| C9 | | 9.143 | 18.5632 | | |
| C10 | 4.9263 | 19.2297 | 32.4793 | | |
| C11 | 35.272 | 33.4765 | 37.7044 | 15.516 | 10.8181 |
| C12 | 56.0681 | 41.8839 | 46.2096 | 25.6152 | 17.4065 |
| C13 | 66.9069 | 55.0945 | 55.7417 | 39.0019 | 28.8935 |
| C14 | 85.2479 | 73.2981 | 68.8216 | 50.085 | 43.1087 |
| C15 | 73.2722 | 70.3427 | 66.7442 | 53.9802 | 48.1135 |
| C16 | 62.6997 | 63.7017 | 64.7628 | 54.1843 | 49.9665 |
| C17 | 56.938 | 56.4521 | 56.6356 | 51.7824 | 48.5738 |
| C18 | 48.8377 | 49.2674 | 49.6387 | 45.6981 | 48.9746 |
| C19 | 45.594 | 46.1072 | 47.185 | 44.4147 | 43.3842 |
| C20 | 35.9476 | 38.6917 | 38.9844 | 36.3394 | 35.7718 |
| C21 | 33.4718 | 34.4048 | 33.8246 | 33.1296 | 32.4704 |
| C22 | 30.2223 | 30.9835 | 30.4992 | 30.0244 | 29.5589 |
| C23 | 28.0459 | 28.5475 | 27.8475 | 27.4997 | 27.4363 |
| C24 | 24.59 | 25.1635 | 25.3425 | 24.3151 | 24.2217 |
| C25 | 23.2 | 23.4999 | 23.1195 | 21.9026 | 22.3479 |
| C26 | 19.6272 | 19.5644 | 19.1705 | 17.8838 | 18.4805 |
| C27 | 18.7375 | 18.4609 | 17.7928 | 16.5871 | 17.2157 |
| C28 | 14.4964 | 13.6472 | 13.5517 | 13.0297 | 13.5066 |
| C29 | 13.5253 | 12.3747 | 12.0381 | 11.0075 | 11.5383 |
| C30 | 8.6021 | 7.1731 | 9.0875 | | 7.5651 |
| C31 | 10.6752 | 4.6009 | 8.6534 | | 9.2222 |
| C32 | 6.4263 | 4.2033 | 4.8085 | | 4.9446 |
| C33 | 6.2736 | | 1.8069 | | |



Keterangan:

- A) *Bacillus badius* B) *Pasteurella avium*
 C) *Bacillus circulans* D) *Bacillus coagulans*
 E) *Bacillus firmus* F) *Bacillus epiphitus*
 G) *Streptobacillus moniliformis*

Gambar 4. Hasil Pewarnaan Gram

Hasil Identifikasi Bakteri. Di akhir penelitian telah berhasil diidentifikasi 7 jenis bakteri yang terlibat dalam proses, 5 jenis di antaranya bergenus *Bacillus*, bersifat aerobik sedangkan 2 jenis lainnya *anaerobik*

fakultatif. Hasil pewarnaan Gram bakteri-bakteri anggota konsorsium tersebut tampak pada Gambar 4.

Menurut Leisinger, et.al. [14], hasil pewarnaan Gram pada satu jenis bakteri dapat menunjukkan Gram variabel, yaitu dapat bersifat gram positif maupun gram negatif. Hal tersebut diakibatkan oleh perbedaan umur koloni bakteri tersebut pada saat pewarnaan Gram dilakukan. Koloni berumur tua akan menunjukkan Gram negatif, sebaliknya jika berumur muda akan menunjukkan Gram positif.

4. Kesimpulan

Konsorsium bakteri uji mampu mendegradasi *sludge* minyak bumi, dengan bukti konsorsium mampu tumbuh dengan baik hingga beban *sludge* minyak bumi mencapai 50% (v/v). Persentase degradasi tertinggi pertumbuhan konsorsium terbaik terjadi pada perlakuan dengan penambahan 50% *sludge* minyak dan pupuk NPK sebanyak 30% dari *sludge* minyak bumi yang ditambahkan. Terjadi degradasi sebesar lebih dari 64% pada semua perlakuan. Persentase degradasi tertinggi sebesar 88,72% terjadi pada perlakuan dengan penambahan 50% *sludge* minyak bumi dan pupuk NPK sebanyak 10% dari *sludge* minyak bumi yang ditambahkan. Hasil analisis kromatografi gas menunjukkan terjadi degradasi *sludge* minyak bumi dengan adanya peningkatan kelimpahan relatif hidrokarbon C₇ hingga C₉, yang diikuti dengan penurunan kelimpahan relatif pada C₁₀ hingga C₁₇. Penurunan terbesar terjadi pada C₁₄, yaitu semula kelimpahan relatifnya terhadap pristane sebesar 85,28% menjadi 43,11%.

Daftar Acuan

- [1] Chator dan Somerville, *The Oil Industry and Microbial Ecosystems*, Heyden & Son Ltd. London, 1978.
- [2] Atlas, R.M., *Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbon: an Environmental Perspective*. (1981), Microbial Review Vol. 45. No. 1 p. 180-209.
- [3] Baker, C and Herson, D. *Bioremediation*. Mc Graw-Hill, Inc. USA, 1994.
- [4] Atlas, R and Bartha, R. *Microbial Ecology*. The Benjamin/Cummings Publishing, London.1985, p. 11-13.
- [5] Gritter, R.J., J.M. Bobbin dan A.E. Schwarting, Penerjemah Kosasih Padmawinata. *Pengantar Kromatografi*. Penerbit ITB, Bandung, 1991. p.13.
- [6] Harayama, S.K, *Biodegradation of Crude Oil*. Program and Abstracts in the First Asia-Pacific Marine Biotechnology Conference. Shimizu, Shizuoka, Japan, 1995.
- [7] Rosenberg, E., Legmann, R., Kushmaro, A., Taube,

- R., dan Ron, E.Z. *Petroleum Bioremediation a Multiphase Problem: Biodegradation*, (1992). p. 337 - 350.
- [8] Breeuwer, P. *Assesmentof Viability of Microorganism Employing Fluorescence Techniques*. Wageningen, 1996, p. 1-22.
- [9] Buchanan, R.E dan N.E. Gibbons. 1974. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Baltimore. The William an Wilkins Co.
- [10] Sheehan, D, *Bioremediation Protocols-Methods in Biotechnology*, Humana Press, New Jersey. 1997. p. 60-63.
- [11] Doerffer, J.W, *Oil Spill Response in the Marine Environment*, First Ed Pergamon Press, Tokyo. 1992, p. 9-20, 91-99. 133-161.
- [12] Sharpley, J.M, *Elementary Petroleum Microbiology*, Gulf Publishing Company. Texas. 1966.
- [13] Horowitz, A., D. Gutnick and E. Rosenberg, *Sequential Growth of Bacteria on Crude Oil: Applied Microbiology*. (1975). 30(1) p. 10-19.
- [14] Leisinger, *et al*, *Microbial Degradation of Xenobiotic & Recalsitrant Coumpound*. Academic Press, London, 1981.

