

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Bioremediasi pada penelitian ini dilakukan dengan cara mencampurkan *crude oil* yang berasal dari lapangan pemboran minyak milik warga Lokal Desa Talang Sungaiangit, Kecamatan Babat Toman, Kabupaten Musi Bumiasin, Provinsi Sumatera Selatan dengan media cair yaitu NB (*Nutrient Broth*) sebagai tempat berkembangnya inokulum agar efektif dalam mendegradasi *crude oil* yang terdapat pada reaktor. Selain itu, ditambahkan *co- substrat* yaitu glukosa. Fungsi glukosa sebagai sumber nutrisi bagi inokulum yang terdapat pada reaktor agar dapat tumbuh dan berkembang secara maksimal.

Glukosa berperan sebagai sumber karbon organik serta memberi nutrisi bagi mikroba sehingga dapat berkembang lebih baik lagi (Kusnaididkk, 2003). Penambahan glukosa dengan variasi perlakuan yang berbeda ini menunjukkan kemampuan yang berbeda-beda dalam proses bioremediasi. Untuk mengetahui efektifnya proses bioremediasi pada minyak mentah dilakukan pengukuran parameter-parameter uji yaitu pengukuran pH, pengukuran *total petroleum hydrocarbon* (TPH) serta perhitungan *Total Plate Count* (TPC).

Penelitian ini direncanakan sampai t4 yaitu selama 28 hari. Pengecekan parameter diukur setiap seminggu sekali. Sehingga didapatkan hasil yaitu t0, t1, t2, t3 dan t4. Penelitian sesuai dengan rencana yang dilakukan selama 28 hari.

1.1. Persiapan Penelitian

Persiapan penelitian yaitu menyiapkan untuk segala kebutuhan selama penelitian telah siap untuk digunakan. Persiapan penelitian yang dilakukan meliputi persiapan alat dan bahan, persiapan bakteri untuk bioremediasi, dan persiapan reaktor.

1.1.1. Persiapan Bakteri untuk Proses Bioremediasi

Pada proses bioremediasi memerlukan persiapan bakteri. Bakteri yang diisolasi diperoleh dari tanah yang telah terkondisikan oleh *crude oil* kurang lebih selama 1 bulan. Bakteri yang digunakan dari hasil penelitian sebelumnya terdapat beberapa jenis bakteri yaitu NCOT-1, NCOT-2, NCOT-3, dan NCOT-4



Gambar 4.1 .Isolat bakteri yang digunakan pada media agar miring

Isolat yang telah diinkubasi dan tumbuh lalu dipindahkan ke media cair yaitu *Nutrient Broth (NB)* yang selanjutnya akan disiapkan sebagai inokulum untuk reaktor penelitian yang sebenarnya. Inokulum dipindahkan ke reaktor untuk melakukan pemeriksaan *OD (Optical Density)* yang bertujuan mencari fase awal stasioner.

Fase stasioner terjadi pada saat laju pertumbuhan bakteri sama dengan laju kematiannya, sehingga jumlah bakteri keseluruhan bakteri akan tetap. Keseimbangan jumlah keseluruhan bakteri ini terjadi karena adanya pengurangan derajat pembelahan sel. Hal ini disebabkan oleh kadar nutrisi yang berkurang dan

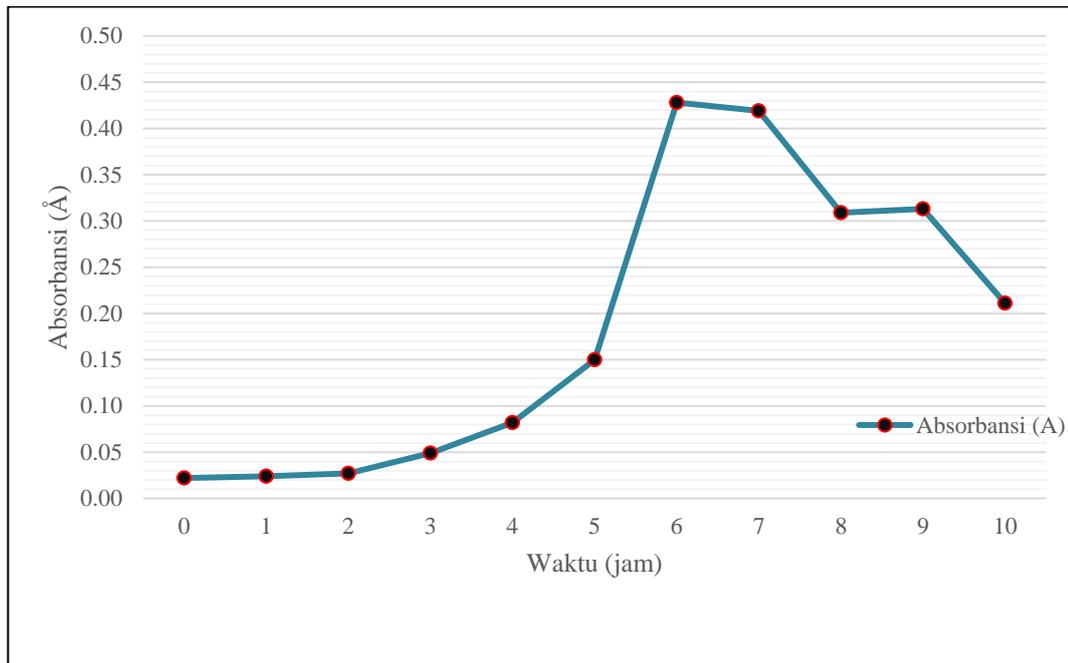
terjadi akumulasi produk toksik sehingga mengganggu pembelahan sel. Fase stasioner ini dilanjutkan dengan fase kematian yang ditandai dengan peningkatan laju kematian yang melampaui laju pertumbuhan, sehingga secara keseluruhan terjadi penurunan populasi bakteri (Fardiaz, 1992)

Awal fase stasioner diketahui melalui pemeriksaan *OD (Optical Density)* untuk mengetahui jumlah sel pada waktu tertentu menggunakan metode turbidimetri. Setya dan Putra (2010) menyebutkan bahwa turbidimetri merupakan metode perhitungan jumlah sel bakteri (berdasarkan kekeruhan) menggunakan spektrofotometer. Bertambahnya jumlah sel bakteri menyebabkan bertambahnya tingkat kekeruhan. Fase pertumbuhan terjadi antara 2,5- 12 jam sebab pada saat 12 jam konsentrasi massa sel telah mencapai titik maksimum dan siap untuk dipindahkan ke reaktor uji yang telah disiapkan.

Pada tabel 4.1 berikut adalah data hasil pembacaan absorbansi dari spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm.

Tabel 4.1. Hasil Pembacaan Absorbansi Inokulum

No	Waktu (Jam)	Absorbansi (Å)
1	0	0.022
2	1	0.024
3	2	0.027
4	3	0.049
5	4	0.082
6	5	0.152
7	6	0.428
8	7	0.419
9	8	0.309
10	9	0.313
11	10	0.211



Gambar 4.2. Kurva Pembenihan Bakteri

Fase pertumbuhan bakteri dapat dibagi menjadi 4 fase, yaitu fase lag, fase logaritma (eksponensial), fase stasioner dan fase kematian. Pada fase lag, terjadi peningkatan ukuran sel. Fase ini ditandai dengan peningkatan komponen makromolekul, aktivitas metabolik, dan kerentanan terhadap zat kimia dan faktor fisik. Fase lag merupakan suatu periode penyesuaian yang sangat penting untuk penambahan metabolit pada kelompok sel, menuju tingkat yang setaraf dengan sintesis sel maksimum.

Kedua yaitu fase log atau pertumbuhan eksponensial. Pada fase eksponensial atau logaritmik, sel berada dalam keadaan pertumbuhan yang seimbang. Selama fase ini, masa dan volume sel meningkat oleh faktor yang sama dalam arti rata-rata komposisi sel dan konsentrasi relatif metabolit tetap konstan. Selama periode ini pertumbuhan seimbang, kecepatan peningkatan dapat diekspresikan dengan fungsi eksponensial alami. Sel membelah dengan kecepatan konstan yang ditentukan oleh sifat intrinsik bakteri dan kondisi lingkungan.

Selanjutnya mikroorganismenya akan memasuki fase stasioner. Pada saat digunakan kondisi biakan rutin, akumulasi produk limbah, kekurangan nutrisi, perubahan pH, dan faktor lain yang tidak diketahui akan mendesak dan mengganggu biakan, mengakibatkan penurunan kecepatan pertumbuhan. Selama fase ini, jumlah sel yang hidup tetap konstan untuk periode yang berbeda, bergantung pada bakteri, tetapi akhirnya menuju periode penurunan populasi. Dalam beberapa kasus, sel yang terdapat dalam suatu biakan yang populasinya selnya tidak tumbuh dapat memanjang, membengkak secara abnormal, atau mengalami penyimpangan, suatu manifestasi pertumbuhan yang tidak seimbang.

Fase terakhir ialah fase penurunan populasi atau fase kematian. Pada saat medium kehabisan nutrisi maka populasi bakteri akan menurun jumlahnya, Pada saat ini jumlah sel yang mati lebih banyak daripada sel yang hidup. (Kusnaldi, 2003).

Tabel 4.1 menunjukkan fase lag terjadi pada jam ke 0 sampai jam ke 3, fase lag pada jam ke 0 sampai ke 2, fase eksponensial pada jam ke 3 sampai jam ke 4, fase stasioner pada jam ke 6 sampai jam ke 7, sedangkan fase kematian pada jam ke 8 sampai jam ke 10 dan seterusnya. Hasil pengukuran *Optical Density* tersebut kemudian digunakan sebagai waktu acuan dalam memindahkan inokulum ke reaktor penelitian yaitu pada fase stasioner pada jam ke 6 sampai jam ke 7.

1.1.2. Persiapan Reaktor

Reaktor yang digunakan dalam penelitian ini berupa botol vial yang memiliki volume 100 ml. Sebelumnya botol vial di sterilkan dalam oven pada suhu ± 70 derajat celsius lalu di timbang dengan timbangan analitik untuk mengetahui berat awal botol vial. Botol vial yang digunakan sebanyak 60 botol, karena di butuhkan 12 botol untuk menguji sampel t_0 sampai 12 botol selanjutnya sampai t_4 . Pengujian sampel dalam botol vial hanya digunakan sekali dalam setiap pengujian.



Gambar 4.3 . Botol vial sebagai reaktor

Botol vial tersebut diisi dengan media cair dan *crude oil* dengan berat total ± 80 ml. Proporsi campuran media cair dan *crude oil* ada 2 variasi yaitu 5% dan 10% *crude oil*. Selanjutnya 4 ml inokulum bakteri yang telah disiapkan di tahap sebelumnya ditambahkan pada masing-masing reaktor. Masing-masing reaktor penelitian dibuat duplo dengan variasi sebagai berikut:

1. Reaktor kontrol uji
 - a. Reaktor kontrol (K1) yaitu media cair + *crude oil* dengan proporsi (95% : 5%)
 - b. Reaktor kontrol (K2) yaitu media cair + glukosa + *crude oil* dengan proporsi (95% : 10% : 5%)
2. Reactor uji pengaruh penambahan konsentrasi glukosa dengan variasi sebagai berikut:
 - a. Reactor A₁
Media cair + *crude oil* (19:1) + Inokulum
 - b. Reactor A₂
Media cair + *crude oil* (9:1) + Inokulum
 - c. Reactor B₁

Media cair + *crude oil* (19:1) + substrat glukosa 10 % + Inokulum

d. Reactor B₂

Media cair + *crude oil* (9:1) + substrat glukosa 10 % + Inokulum

Selanjutnya adalah komposisi reaktor uji yang lebih jelas terdapat pada tabel 4.2 sebagai berikut:

Tabel 4.2. Variasi Reaktor Penelitian

Kode Reaktor	Proporsi								Total berat	
	Media		Crude oil		Substrat		Bakteri			
	ml	gram	ml	gram	ml	gram	ml	gram	Ml	gram
K1	76	76,76	4	3,72	0	0	0	0	80	80,48
K2	76	76,76	4	3,72	8	12,32	0	0	88	92,8
A1	76	76,76	4	3,72	0	0	4	4,084	84	84,564
A2	72	72,72	8	7,44	0	0	4	4,084	84	84,244
B1	76	76,76	4	3,72	8	12,32	4	4,084	92	96,884
B2	72	72,72	8	7,44	8	12,32	4	4,084	92	96,564

4.2. Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan bertujuan untuk mengetahui kondisi kimia awal pada sampel *crude oil* yang akan diuji dan diteliti sebelum digunakan pada reaktor penelitian.

4.2.2. Hasil Analisis Sifat Kimia

Analisis sifat kimia *crude oil* dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu UGM dengan hasil sebagai berikut:

Tabel 4.3. Hasil Analisis Sifat Kimia *Crude Oil*

No	Parameter Analisis	Satuan	Konsentrasi Parameter
1	Carbonorganic	%	50,60
2	Kadar air	%	0,0
3	pH	H ₂ O (29,7°C)	6,79

Sumber: Data Primer, 2016

Berdasarkan hasil analisis sifat kimia terhadap *crude oil*, konsentrasi C-organik yang terkandung sangat tinggi yaitu mencapai 50,60%. Hal ini dikarenakan *crude oil* merupakan senyawa hidrokarbon yang komposisi utamanya adalah karbon dan hidrogen. Karbon merupakan senyawa organik yang digunakan oleh mikroba heterotrof sebagai sumber energi untuk respirasi. Melalui proses respirasi mikroba dapat tumbuh dan bereproduksi (Cookson, 1995).

Kadar air pada sampel *crude oil* adalah 0%, jadi sampel *crude oil* murni minyak mentah tanpa adanya campuran air dan pH nya termasuk netral hampir mencapai 7 yaitu dengan pH 6,79.

4.3. Analisis dan Pembahasan Hasil Penelitian

Penelitian dilakukan untuk mengetahui pengaruh penambahan *co-substrat* yaitu glukosa dalam aktivitas bakteri dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon dalam media cair di dalam reaktor penelitian. Pengaruh penambahan glukosa tersebut dilihat berdasarkan hasil pengukuran parameter uji yaitu jumlah sel bakteri (*Total Plate Count*), pH, dan *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH).

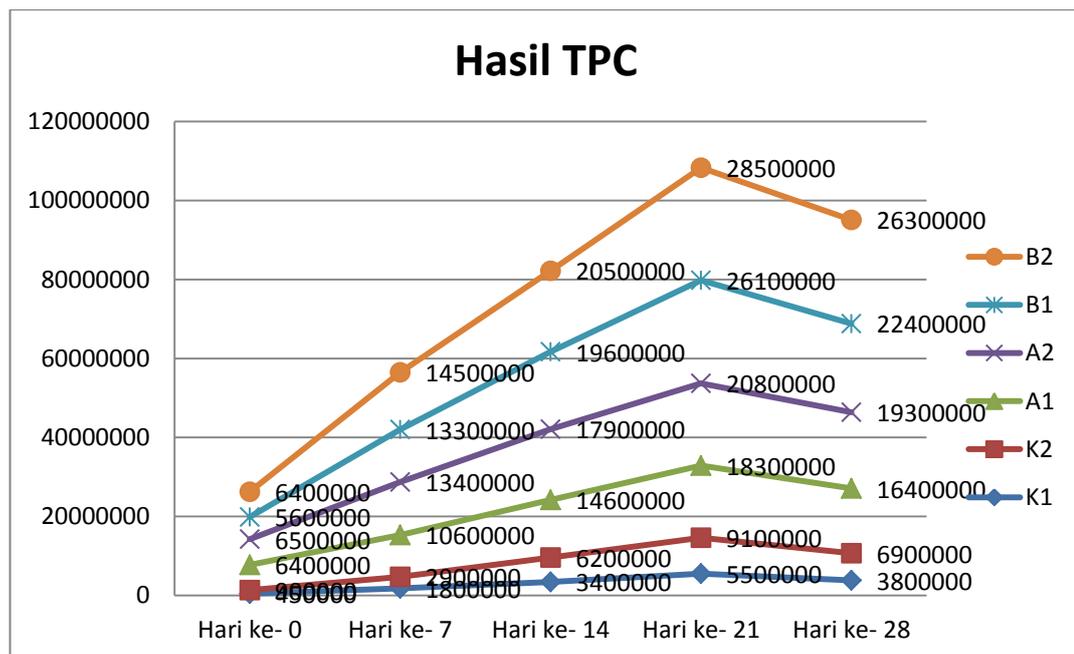
4.3.1. Analisis dan Pembahasan Hasil Uji Parameter TPC

Pengukuran variabel analisa biologi dilakukan pertama kali sebelum parameter lainnya karena diharapkan reaktor masih dalam keadaan steril. Tujuan menghitung jumlah sel bakteri untuk mengetahui keberadaan mikroba yang berkembang didalam reaktor. Secara mikrobiologi, terjadinya degradasi hidrokarbon yang berasal dari *crude oil* dapat diduga dengan mengetahui

pengurangan atau penambahan jumlah sel mikroba pendegradasi setiap waktu. Untuk itu sel mikroba perlu dikultur dalam media kultur yang mengandung nutrisi sebagai sumber makanan bagi mikroba. Analisis biologi yang dilakukan dengan metode *pour plate* dengan media padat *NA (Nutrien Agar)* sebagai media umum bakteri yaitu terdapat mikroba heterotrof dalam masing-masing reaktor penelitian. Hasil analisis jumlah sel bakteri pada masing-masing reaktor terdapat dalam tabel 4.4 sebagai berikut.

Tabel 4.4. Pengaruh Pengujian Parameter *Total Plate Count (TPC)*

Variabel	Hari ke-0	Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke- 21	Hari ke- 28
K1	450000	1800000	3400000	5500000	3800000
K2	900000	2900000	6200000	9100000	6900000
A1	6400000	10600000	14600000	18300000	16400000
A2	6500000	13400000	17900000	20800000	19300000
B1	5600000	13300000	19600000	26100000	22400000
B2	6400000	14500000	20500000	28500000	26300000



Gambar 4.4. Grafik Hasil *Total Plate Count (TPC)*

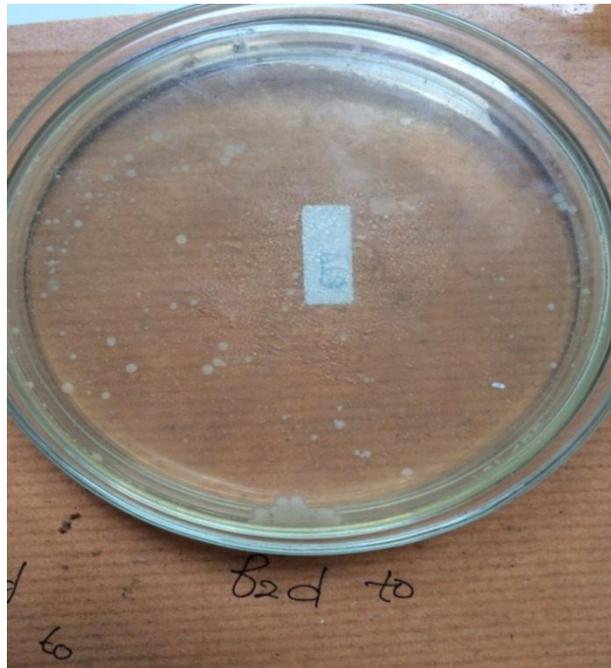
Pertumbuhan mikroba dapat ditandai dengan peningkatan jumlah dan massa sel sedangkan kecepatan pertumbuhan tergantung pada lingkungan fisik dan kimianya. Pertumbuhan bakteri membentuk pola pembelahan biner. Pada percobaan ini, semua reaktor mengalami peningkatan jumlah sel bakteri. Hal itu juga terjadi pada reaktor kontrol yaitu K1 dan K2. Walaupun tidak adanya penambahan inokulum pada reaktor tersebut, akan tetapi bakteri dimungkinkan berasal dari bakteri yang secara alami ada pada *crude oil*. Media cair berperan baik untuk bertumbuhnya bakteri yang terdapat pada *crude oil*, akan tetapi jumlah bakteri tidak sebanyak pada reaktor lain yang ditambahkan inokulum

Pertumbuhan bakteri mencapai titik puncak pada hari ke-14 menuju hari ke- 21. Pada waktu ini terlihat pertumbuhan bakteri yang banyak pada hasil TPC yang terdapat pada pengujian. Pertumbuhan paling besar terdapat pada reaktor B1 dan B2. Hal ini dipengaruhi oleh penambahan glukosa sebagai *co-substrat* pada reaktor tersebut sehingga bakteri yang terdapat dalam reaktor dapat berkembang dengan baik. Glukosa memberikan nutrisi bagi perkembangan bakteri sehingga bakteri atau mikroorganisme dapat tumbuh dengan baik.

Dalam penelitian Munawar, dkk (2006) pengaruh penambahan nutrisi organik terhadap jumlah total bakteri meningkat dari 2 minggu yaitu 3,11 cfu/gram sampai usia 4 minggu yaitu 4.95 cfu/gram dan menurun pada usia 6 minggu menjadi 4,72 cfu/gram. Pada penelitian ini terlihat terjadi penurunan jumlah bakteri pada minggu ke- 6

Sama dengan penelitian sebelumnya, terjadi penurunan jumlah sel bakteri di hari ke-28 pada semua reaktor. Itu bisa terjadi dikarenakan titik jenuh pertumbuhan bakteri dan bahkan adanya bakteri yang mati sehingga berkurangnya jumlah bakteri yang dihitung pada hari ke- 28. Banyak aspek yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri terkait dengan metabolisme bakteri itu sendiri antara lain pH, penggunaan karbon dan sumber energi, efisiensi degradasi

substrat, sintesis protein dan berbagai materi penyimpan, dan pelepasan produk metabolisme dari dalam sel (Baily & Ollis 1986)



Gambar 4.5. Koloni bakteri dari reaktor B2d pada media NA dalam cawan petri pada hari ke-0



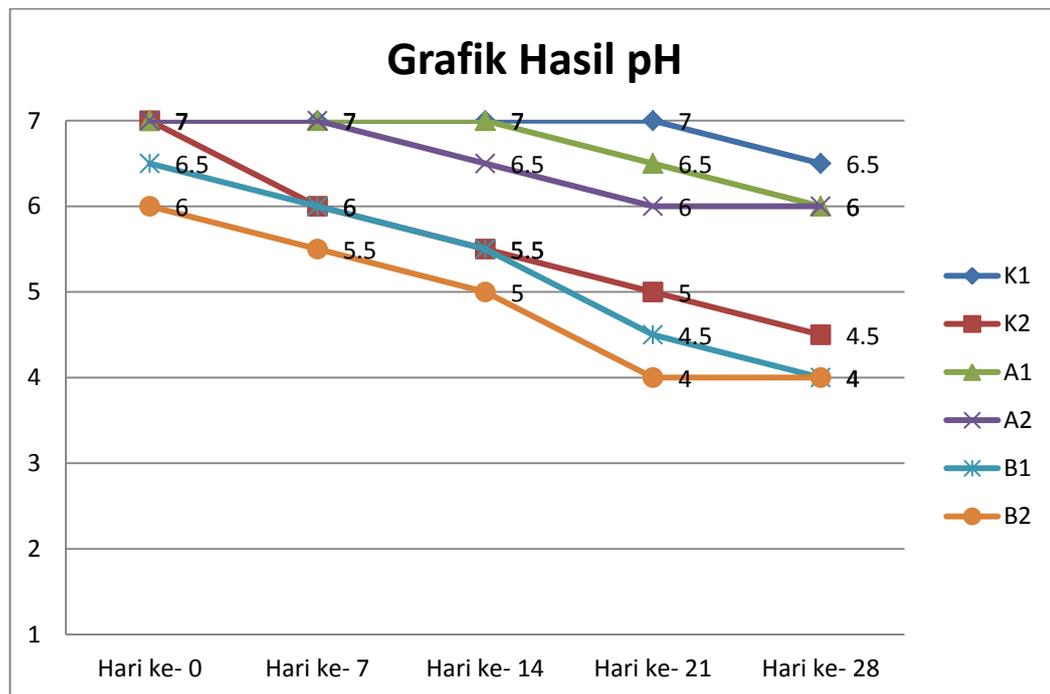
Gambar 4.6. Koloni bakteri dari reaktor B2d pada media NA dalam cawan petri pada hari ke-28

4.3.2. Analisis dan Pembahasan Hasil Uji Parameter pH

Derajat keasaman (pH) merupakan salah satu indikator berlangsungnya proses biokimia. Besar atau kecilnya nilai pH mempengaruhi kehidupan mikroorganismenya dalam proses biodegradasi hidrokarbon. Sebagian besar biodegradasi senyawa hidrokarbon berlangsung pada pH netral. Pengukuran pH pada sampel uji menggunakan pH indikator. Berikut adalah hasil pengujian parameter pH yang diukur setiap 7 hari sekali selama 28 hari.

Tabel 4.5. Hasil Pengujian Parameter pH

Variabel	Hari ke- 0	Hari ke- 7	Hari ke- 14	Hari ke- 21	Hari ke- 28
K1	7	7	7	7	6,5
K2	7	6	5,5	5	4,5
A1	7	7	7	6,5	6
A2	7	7	6,5	6	6
B1	6,5	6	5,5	4,5	4
B2	6	5,5	5	4	4



Gambar 4.7. Grafik Hasil Parameter pH

Hasil pengujian parameter pH pada sampel menunjukkan bahwa nilai pH sampel pada masing-masing reaktor memiliki penurunan pH disetiap minggunya. Pada reaktor K1 memiliki pH yang cenderung netral, sedangkan pada K2 memiliki penurunan yang dipengaruhi oleh penambahan glukosa sebagai *co-substrat*. Pada reaktor A1 dan A2 pada minggu pertama memiliki pH netral dan pada minggu seterusnya memiliki penurunan pH yang tidak signifikan, akan tetapi pada reaktor B1 dan B2 memiliki pH awal di bawah netral yaitu 6,5 dan pada minggu terakhir pengujian nilai pH mencapai 4. Penambahan glukosa pada reaktor B1 dan B2 berpengaruh akan nilai pH pada reaktor tersebut.

Penurunan pH tersebut diduga disebabkan oleh aktivitas mikroba yang membentuk metabolit-metabolit asam guna beradaptasi pada lingkungan yang baru. Kemungkinan lain terjadinya penurunan pH terjadi karena terakumulasinya asam organik (terutama asam glukonat, piruvat, sitrat, dan suksinat) yang terbentuk dari metabolisme organik (Watkinson, 1980 dalam Nugroho, 2006).

4.3.3. Analisis dan Pembahasan Hasil Uji Parameter TPH

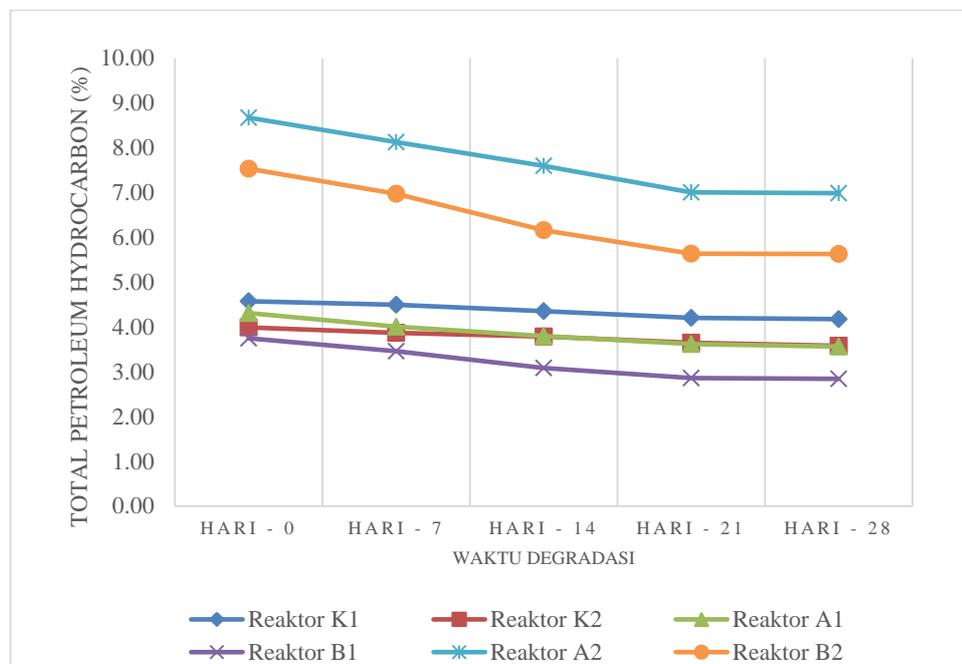
Parameter *Total Petroleum Hidrokarbon (TPH)* diuji untuk mengetahui penurunan konsentrasi hidrokarbon dalam reaktor. Pengamatan dilakukan selama 28 hari dengan 4 kali pengujian parameter *TPH* yang dilakukan tiap 7 hari. Aerasi dilakukan dengan cara melakukan pengadukan reaktor dengan *orbital shaker* kurang lebih selama 60 menit setiap harinya. Pengadukan dilakukan untuk terjadinya pertukaran oksigen yang dibutuhkan oleh mikroba yang hidup dalam kondisi aerob berlangsung dengan baik. Pada Tabel 4.6 menunjukkan hasil pengujian konsentrasi *Total Petroleum Hydrocarbon (TPH)*.

Tabel 4.6. Hasil Pengujian Parameter *Total Petroleum Hydrocarbon (TPH)*

Variabel	Hari ke- 0	Hari ke- 7	Hari ke- 14	Hari ke- 21	Hari ke- 28
	(%)				
K1	4,57	4,49	4,35	4,20	4,17
K2	3,99	3,87	3,79	3,65	3,58
A1	4,31	4,01	3,80	3,62	3,56
A2	8,67	8,13	7,60	7,01	6,99
B1	3,75	3,46	3,08	2,86	2,84
B2	7,53	6,97	6,16	5,64	5,63

Hasil pengujian menunjukkan kecenderungan penurunan pada semua reaktor penelitian. Pada reaktor K1 dan K2 yang berperan sebagai kontrol, memiliki penurunan *TPH* walaupun pada reaktor tersebut tidak ditamhkannya inokulum. Penurunan persentase *TPH* bisa disebabkan bakteri pendegradasi yang terdapat pada *crude oil* dapat mendegradasi *crude oil* walaupun tidak banyak. Selain itu,

penurunan *TPH* dapat terjadi dikarenakan pada saat pengujian, kadar *crude oil* dapat berkurang pada saat pemisahan antara minyak, media cair dan *n-hexane*.



Gambar 4.8. Grafik Hasil Persentase TPH pada Reaktor

Secara hipotetik, pada reaktor B1 dan B2 seharusnya menunjukkan penurunan *TPH* yang lebih baik karena mengandung glukosa yang berfungsi sebagai konsentrasi substrat yang dapat memberi enzim pertumbuhan bagi perkembangan bakteri dan mikroorganisme yang ada dalam reaktor. Pada hasil uji membuktikan bahwa penurunan lebih besar terjadi pada reaktor B1 dan B2. Ini membuktikan bahwa bakteri yang didapat dari tanah yang terkondisikan *crude oil* tersebut dapat mendapat nutrisi dari glukosa dan berkembang dengan baik sehingga dapat mendegradasi *crude oil* dalam reaktor dengan baik.

Cookson (1995) menjelaskan senyawa hidrokarbon digunakan oleh mikroba sebagai sumber nutrisi dan sumber energi untuk melakukan metabolisme dan perkembangbiakan. Terjadinya proses degradasi senyawa hidrokarbon secara mekanisme berlandaskan pada prinsip bioremediasi dimana kelompok mikroba

hidrokarbonklastik melakukan proses perombakan senyawa hidrokarbon dengan enzim pengoksidasi hidrokarbon, sehingga mikroba mampu mendegradasi senyawa hidrokarbon minyak bumi dengan memotong rantai hidrokarbon menjadi lebih pendek. Selain itu, mikroba hidrokarbonklastik memiliki kemampuan untuk menempel pada hidrokarbon, kesanggupan memproduksi emulsifier, serta memiliki mekanisme untuk membebaskan diri (*desorption*) dari hidrokarbon.

Pengaruh penambahan glukosa terhadap pada campuran media cair, inokulum dan *crude oil* diperlihatkan pada Tabel 4.7 berikut ini.

Tabel 4.7. Hasil Penurunan *Total Petroleum Hydrocarbon (TPH)*

Kode Reaktor	Proporsi				Konsentrasi <i>TPH</i> (%)		Penurunan <i>TPH</i> (%)
	Media Cair	<i>Crude Oil</i>	<i>Substrat</i>	<i>Inokulum</i>	Hari ke- 0	Hari ke- 28	
K1	76,76 gram	3,72 gram	-	-	4,57	4,17	8,75
K2	76,76 gram	3,72 gram	12,32 gram	-	3,99	3,58	10,22
A1	76,76 gram	3,72 gram	-	4,084 gram	4,31	3,56	17,30
A2	72,72 gram	7,44 gram	-	4,084 gram	8,67	6,99	19,44
B1	76,76 gram	3,72 gram	12,32 gram	4,084 gram	3,75	2,84	24,18
B2	72,72 gram	7,44 gram	12,32 gram	4,084 gram	7,53	5,63	25,26

Persentase penurunan TPH pada setiap reaktor lalu diuji secara statistika untuk melihat signifikansi antara penurunan TPH antar reaktor. Hasil uji signifikansi terdapat pada tabel 4.8. dan tabel 4.9.

Tabel 4.8. Hasil Uji Signifikansi Penurunan *TPH* pada Reaktor A1 dan B1 terhadap reaktor K1

No	Reaktor	Hasil uji Signifikansi
1	K1	8.75 ^a
2	A1	17.3 ^b
3	B1	24.18 ^c

Tabel 4.9. Hasil Uji Signifikansi Penurunan *TPH* pada Reaktor A2 dan B2 terhadap reaktor K2

No	Reaktor	Hasil uji Signifikansi
1	K2	10.22 ^a
2	A2	19.44 ^b
3	B2	25.255 ^c

Penurunan *TPH* pada reaktor A1 berbeda nyata dengan penurunan *TPH* pada reaktor B1 (tabel 4.8.). Begitu pula penurunan *TPH* pada reaktor A2 dan B2 menunjukkan hasil yang signifikan yaitu 19,44 dan 25,25 (tabel 4.9.). Maka dapat disimpulkan bahwa penurunan *TPH* pada reaktor B1 dan B2 di pengaruhi oleh penambahan glukosa walaupun penurunan hanya mencapai 5% di bandingkan dengan reaktor A2.

Pada reaktor A1 dan A2 tetap mengalami penurunan *TPH*. Penurunan dikarenakan bakteri berkembang dengan baik di media cair yang terdapat dalam campuran reaktor, pada saat bakteri dapat berkembang dengan baik maka bakteri mampu mendegradasi minyak mentah yang terdapat pada reaktor. Akan tetapi penurunan tidak sebanyak pada reaktor B1 dan B2 yaitu campuran reaktor yang ditambahkan dengan *co- substrat*. Penurunan paling besar pada reaktor B2 yaitu sebesar 25,26 %

Penurunan disebabkan oleh reaktor yang diisi dengan media cair sehingga bakteri yang diambil dari tanah yang terkondisikan oleh *crude oil* dapat berkembang dengan baik sehingga dapat bekerja dan tumbuh untuk mendegradasi *crude oil* dalam reaktor. Selanjutnya, penambahan glukosa sebagai *co-substrat* pada reaktor B1 dan B2 menambahkan nutrisi bagi mikroorganisme sehingga dapat tumbuh dan berkembang lebih baik lagi, lalu mendegradasi minyak mentah dalam reaktor dengan maksimal.

Penelitian sebelumnya oleh Laksmisari dkk (2014) menunjukkan bahwa penambahan glukosa sebagai *co-substrat* dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri sehingga meningkatkan efisiensi penyisihan minyak solar. Semakin besar penambahan *co-substrat*, semakin besar efisiensi penurunan kandungan minyak solar. Efisiensi tertinggi kinerja HRAR dalam menurunkan kandungan minyak solar adalah sebesar 84,27%. Efisiensi tertinggi ini didapatkan pada reaktor dengan variasi konsentrasi minyak solar 830 ppm dan cosubstrate sebesar 10 gram pada jangka waktu pengujian selama 35 hari.

Sedangkan penelitian oleh Akbar dan Edwan (2010) menunjukkan bahwa penambahan surfaktan, baik surfaktan sintetis ataupun biosurfaktan dapat meningkatkan efisiensi degradasi TPH dari minyak bumi dan oli bekas. Biosurfaktan berasal dari bakteri *Azotobacter vinelandii* dan penambahan glukosa. Dengan penambahan biosurfaktan sebanyak 5% (v/v) dapat meningkatkan efisiensi degradasi TPH minyak bumi dan oli bekas sebanyak 86,73% dan 88,44%.

Pada penelitian penurunan *TPH* paling besar terjadi pada reaktor B2 yaitu 25,26% yang memiliki komposisi *crude oil* dan substrat yang lebih besar dibandingkan dengan reaktor lainnya. Penurunan terendah terjadi pada reaktor A1 yaitu 17,30% yang memiliki komposisi *crude oil* lebih kecil dan tanpa penambahan substrat. Semakin besar jumlah *crude oil* dan substrat yang terdapat dalam reaktor, maka semakin besar pula bakteri dapat mendegradasi minyak dalam reaktor

Pada hari ke- 14, pada semua reaktor terjadi penurunan *TPH* yang lebih besar dibandingkan minggu-minggu sebelumnya. Penurunan paling besar terjadi pada reaktor B1 dan B2 yang memiliki penurunan dari minggu sebelumnya mencapai 11%. Sedangkan pada minggu lainnya hanya mengalami penurunan 5-8%. Sehingga dapat disimpulkan pada hari ke- 14 merupakan titik puncak bakteri mendegradasi *crude oil* pada tiap reaktor.

Penurunan *TPH* pada pengujian ini tidak sebesar pada dua pengujian sebelumnya karena pada penelitian hanya menggunakan bakteri yang didapat dari

tanah yang terkondisikan *crude oil*, sehingga kecepatan dan kemampuan mendegradasi minyak mentah dapat diketahui dalam percobaan ini.

Pada hari ke 28, hasil penurunan *TPH* cenderung sedikit dibandingkan minggu sebelumnya. Diperkirakan pada minggu ke 21 mencapai minggu ke 28 merupakan titik jenuh perkembangan bakteri didalam reaktor. Sehingga tidak mendegradasi minyak mentah yang terdapat dalam reaktor dengan lebih banyak lagi. Akan tetapi agar dapat mengetahui apakah minggu ke- 28 penurunan diakibatkan karena titik jenuh pertumbuhan bakteri, seharusnya uji dilakukan sampai hari ke- 35 dan hari ke- 42 agar mendapatkan hasil yang akurat.

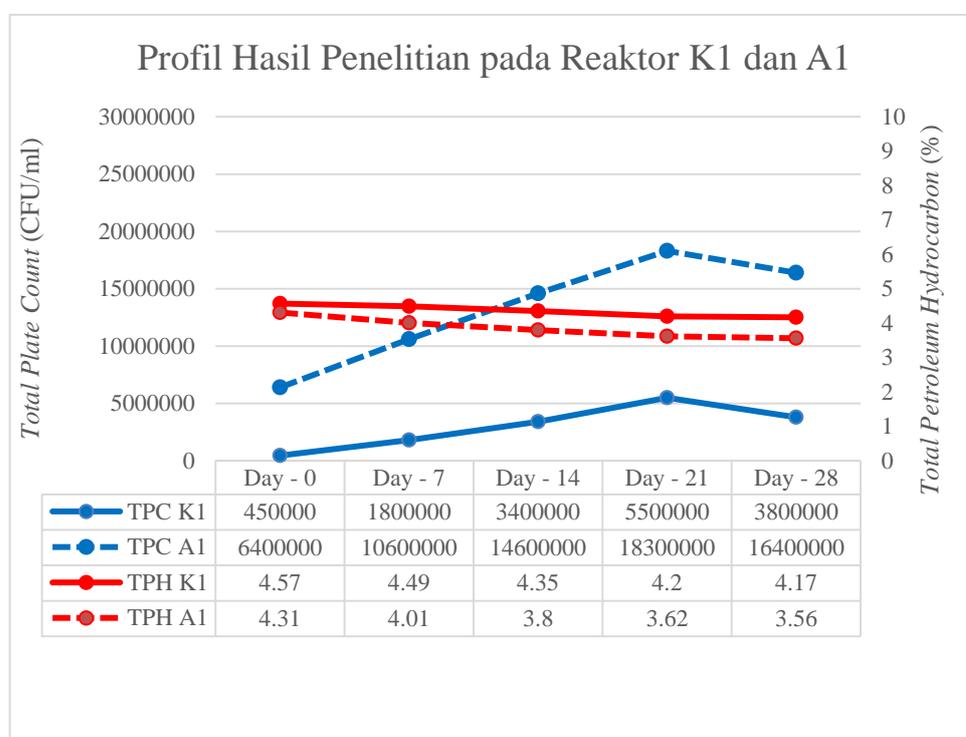
Penambahan nutrien organik pada bioremediasi tumpahan minyak mentah mampu menstimulasi pertumbuhan mikroba pada daerah yang tercemar. Dalam waktu 4 minggu, bioremediasi dengan teknik ini mampu menurunkan konsentrasi minyak sebesar 88,25%. Hasil tersebut didapat dengan metode media diaduk secara berkala, sedangkan pada metode media tidak diaduk mendapat persentase penurunan 74,92%. Sehingga pengadukan salah satu faktor untuk mendapatkan oksigen agar penurunan *TPH* menjadi maksimal (Munawar dkk, 2006)

Pada percobaan oleh Luhur dkk (2010) melakukan uji variasi konsentrasi glukosa untuk mengetahui pemanfaatan glukosa sebagai sumber karbon. Pengamatan terhadap pertumbuhan bakteri dan pengukuran kuantitas biosurfaktan fraksi asam lemak dan kuantitas eksopolisakarida (*EPS*) diamati setiap 24 jam sekali selama empat hari. Percobaan dengan reaktor *batch* dilakukan dengan kisaran pH netral 6-7, temperatur ruang, serta kecepatan *shaker* 100 rpm. Berdasarkan komposisi glukosa yang berikan diharapkan diketahui kecenderungan dan efisiensi pemanfaatan glukosa sebagai sumber karbon.

Banyak penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa penambahan nutrien organik, khususnya yang mengandung unsur C dan H menunjukkan hasil yang lebih efektif dalam menangani pencemaran dari minyak bumi. Namun penelitian tentang kondisi dan komposisi penambahan nutrient yang paling optimal belum banyak dilakukan. menurut Venosa dkk (2003) jenis dan konsentrasi *nutrient* yang optimal sangat bervariasi tergantung properti minyak dan kondisi lingkungan.

1.4. Profil Hasil Penelitian

Pada hasil data diatas kemudian dibuat profil hasil penelitian terdiri dari gabungan hasil pengujian parameter *Total Petroleum Hydrocarbon (TPH)* dan *Total Plate Count (TPC)* pada masing-masing reaktor penelitian yang diplotkan terhadap reaktor kontrol dalam satu grafik. Selanjutnya akan dilakukan analisis terhadap masing-masing profil hasil penelitian untuk mengetahui pengaruh penambahan *co-substrat* terhadap bioremediasi pencemaran oleh *crude oil*.

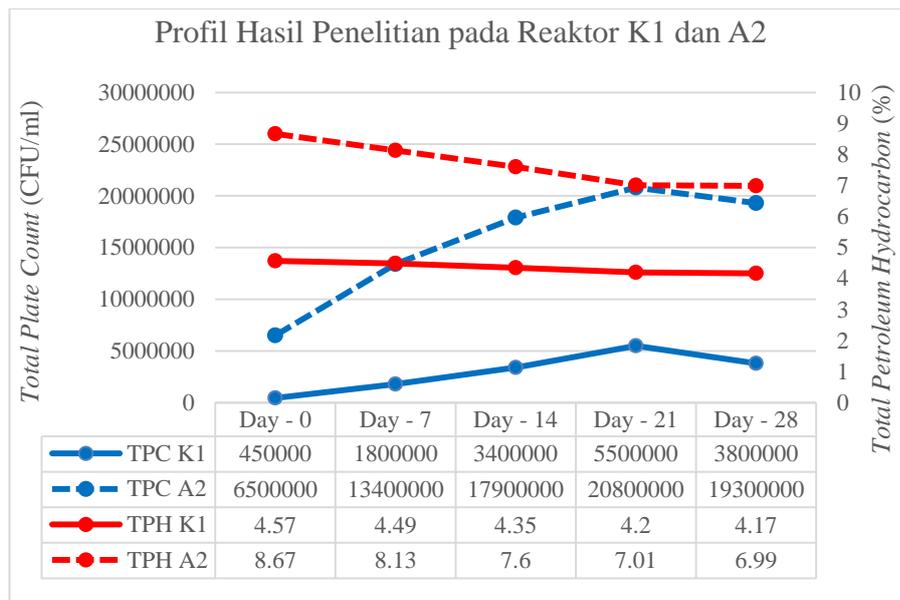


Gambar 4.9. Profil Hasil Penelitian Reaktor A1 terhadap K1

Pada reaktor A1 dan K1 memiliki kadar proporsi mediatan *crude oil* yang sama yaitu 76,76 pada media cair dan 3,72 gram pada *crude oil*, tetapi pada reaktor A1 diberi penambahan inokulum sebesar 5% yaitu 4,084 gram. Berdasarkan gambar 4.8, kedua reaktor mengalami perubahan sesuai dengan keadaan kontrolnya. Dapat diperhatikan pada reaktor A1 dan reaktor K1 mengalami penurunan TPH di setiap minggunya. Pada grafik, dari hari ke-0

sampai hari ke-21 jumlah TPH pada kedua reaktor menurun. Sama dengan halnya pada grafik TPH, pada grafik TPC dapat di lihat jumlah bakteri dari hari ke-0 sampai hari ke-21 mengalami kenaikan jumlah bakteri

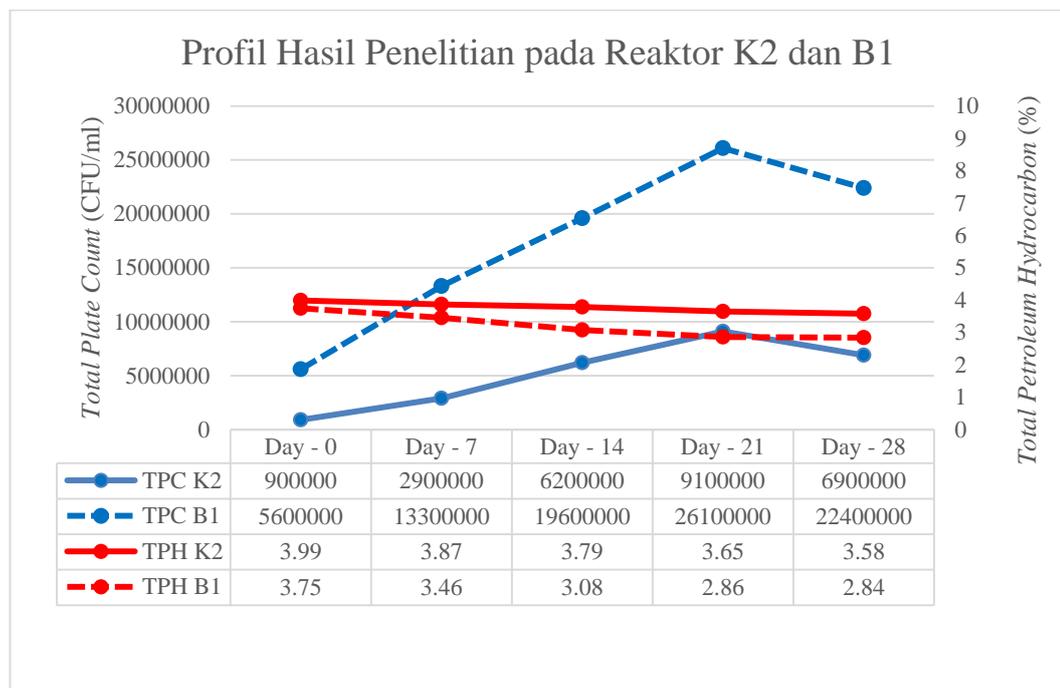
Kemudian, disaat hari ke 21 menuju hari ke- 28 pada grafik terlihat jumlah bakteri mengalami penurunan, konsentrasi TPH pada reaktor A1 terlihat tidak mengalami penurunan. Maka dari grafik diatas dapat disimpulkan bahwa banyaknya bakteri berpengaruh pada penurunan persentase TPH. Semakin banyak bakteri yang tumbuh dalam reaktor, maka semakin kecil pula persen TPH yang terdapat dalam reaktor. Itu semua diakibatkan oleh bakteri berperan sebagai pendegradasi minyak dalam reaktor.



Gambar 4.10. Profil Hasil Penelitian Reaktor A2 terhadap K1

Pada reaktor A2 memiliki kadar proporsi media dan *crude oil* berbeda dengan A1, yaitu mengandung 72,72 gram media cair dan 7,44 gram *crude oil*. Pada grafik terlihat bahwa pada grafik *TPH* dan *TPC*, reaktor tersebut berbanding lurus dengan kontrolnya yaitu K1. Pada reaktor A2, kenaikan jumlah bakteri lebih banyak dibandingkan dengan A1, hal ini dikarenakan jumlah *crude oil* yang

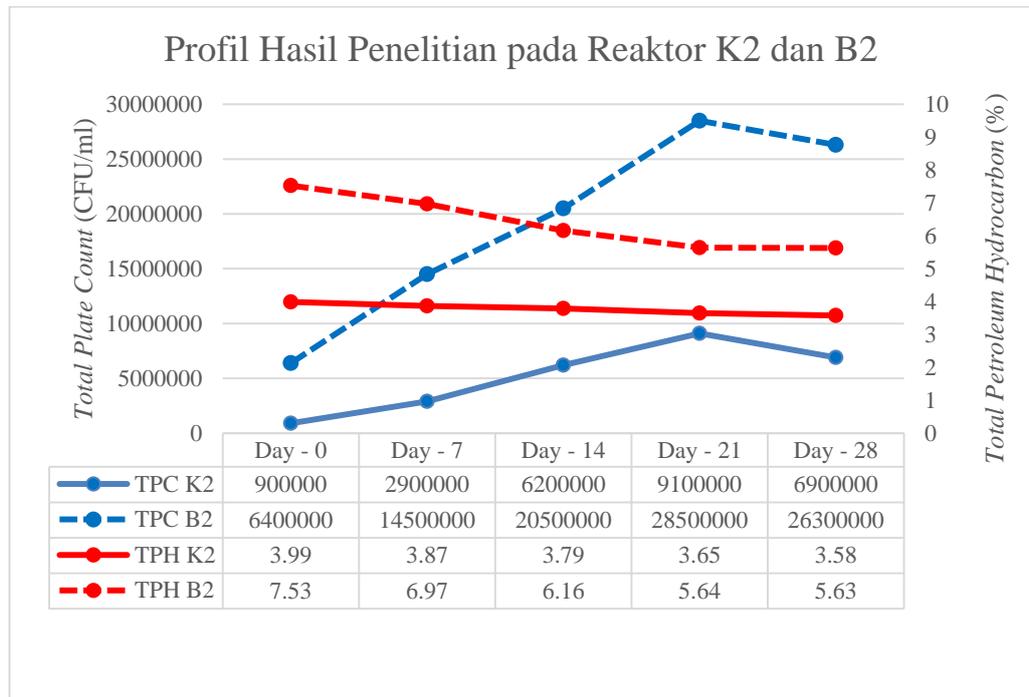
berbeda diantara kedua reaktor tersebut. Didalam *crude oil* terdapat bakteri lainnya yang dapat berkembang sehingga dapat meningkatnya jumlah bakteri didalam reaktor



Gambar 4.11. Profil Hasil Penelitian Reaktor B1 terhadap K2

Pada reaktor B1 dan K2 memiliki kadar proporsi media dan *crude oil* yang sama yaitu 76,76 pada media cair dan 3,72 gram pada *crude oil* serta penambahan substrat berupa glukosa di kedua reaktor sebanyak 12,32 gram, tetapi pada reaktor B1 diberi penambahan inokulum sebesar 5% yaitu 4,084 gram. Berdasarkan pada gambar 4.5 dan gambar 4.7 terlihat penambahan jumlah bakteri dan persentase TPH pada reaktor.

Penambahan glukosa pada reaktor B1 menghasilkan jumlah bakteri yang lebih banyak dibandingkan dengan A1, begitu juga dengan persentase TPH nya lebih kecil dibandingkan dengan reaktor A1. Terlihat dari grafik bahwa glukosa berpengaruh dalam mempercepat dan memperbanyak jumlah bakteri



Gambar 4.12. Profil Hasil Penelitian Reaktor B2 terhadap K2

Berbeda dengan reaktor B1, reaktor B2 memiliki proporsi media dan *crude oil* lberbeda dengan A1, yaitu mengandung 72,72 gram media cair, 7,44 gram *crude oil* dan inokulum serta glukosa sebanyak 12,32 gram. Pada reaktor B2 memiliki penurunan persentase TPH paling besar dan jumlah bakteri yang paling banyak dibandingkan dengan reaktor yang lain.

Pada reaktor B2 mengandung jumlah *crude oil* yang lebih banyak serta penambahan glukosa pada reaktor lalu bakteri dapat tumbuh dengan baik karena mendapatkan nutrisi dari glukosa. Sehingga semakin banyak bakteri yang tumbuh, maka semakin besar juga bakteri dapat mendegradasi *crude oil* didalam reaktor

Glukosa memiliki struktur cincin yang mengandung C dan H yang berada dalam kesetimbangan dengan bentuk yang lebih reaktif, yang proporsinya 0.0026% pada pH 7. Dalam respirasi, melalui serangkaian reaksi terkatalisis enzim, glukosa teroksidasi hingga akhirnya membentuk karbondioksida dan air, menghasilkan energi. Bakteri mendapatkan stimulan yang baik yang berasal dari glukosa sehingga, glukosa berpengaruh pada berkembangnya jumlah banyaknya bakteri (Juliana, 1991)

Pada semua reaktor berbanding lurus dengan kontrolnya, tetapi pada pengujian di hari ke-28 terjadi penurunan jumlah koloni di semua reaktor termasuk pada kontrolnya yaitu reaktor K1 dan K2. Penurunan jumlah bakteri mengakibatkan berkurangnya efektifitas bakteri mendegradasi *crude oil* dalam reaktor sehingga persentase TPH dari pengujian hari ke- 21 dan hari ke-28 menurun sedikit bahkan cenderung sama persentase TPH nya.

Pada penelitian ini, yang berperan menjadi substrat adalah keduanya yaitu *crude oil* dan glukosa. Hal ini disebut dengan bioremediasi *cometabolism*. Bioremediasi *Cometabolic* terdapat aerobik atau anaerobik. Dalam bioremediasi *cometabolic* aerobik, kontaminan teroksidasi oleh enzim atau kofaktor yang dihasilkan selama metabolisme mikroba senyawa lain dengan oksigen. Dalam bioremediasi *cometabolic* anaerobik, kontaminan berkurang oleh enzim atau kofaktor yang dihasilkan selama metabolisme mikroba senyawa lain dalam lingkungan tanpa oksigen. Dalam kasus ini, biodegradasi kontaminan tidak menghasilkan energi atau manfaat pertumbuhan mikroba mediasi reaksi (EPA 2000).

Bioremediasi *Cometabolic* membutuhkan substrat yang cocok untuk merangsang reaksi yang tepat. Donor elektron diamati dalam oksidasi aerobik *cometabolic* termasuk metana, etana, etena, propana, butana, hidrokarbon aromatik (seperti toluena dan fenol), dan amonia (EPA 2000). Metanol, glukosa, asetat, laktat, sulfat, atau piruvat dapat berfungsi sebagai substrat selama reduksi anaerobik *cometabolic* (Hazen 2010). Enzim (atau kofaktor) diproduksi dalam menanggapi degradasi mikroba substrat tersebut. Bakteri yang terlibat dalam degradasi *cometabolic* tidak menerima manfaat karbon atau energi dari kontaminan. Selain itu, produk antara yang bertindak sebagai inhibitor metabolisme mikroba dapat diproduksi selama bioremediasi *cometabolic* (Powell *et al.* 2011, Rui *et al.* 2004, Sipkema *et al.* 2000, Semprini *et al.* 2005).

Pada penelitian, penambahan glukosa merupakan salah satu solusi berguna untuk bioremediasi polutan yang penambahan substrat untuk pertumbuhan bakteri aerobik yang baik. Strategi bioremediasi yang mempekerjakan *cometabolism* memiliki keuntungan untuk dapat mendegradasi kontaminan untuk melacak

konsentrasi sampai ke bagian yang sangat rendah. Presentasi ini akan membahas pentingnya *cometabolism* dalam biodegradasi kontaminan di lingkungan.