

**BIODEGRADASI RESIDU TOTAL PETROLEUM HIDROKARBON DI BAWAH
KONSENTRASI 1% (W/W) HASIL PROSES BIOREMEDIASI
(*Biodegradation of Total Petroleum Hydrocarbons Residues below 1% Concentration (W/W)
Using Bioremediation Process*)**

Allen Kurniawan^{1*} dan Agus Jatnika Effendi²

¹Jurusan Teknik Sipil dan Lingkungan, Institut Pertanian Bogor,
Kampus IPB Dramaga, Bogor, 16680.

²Jurusan Teknik Lingkungan, Institut Teknologi Bandung,
Jln. Ganesha No. 10, Bandung, 40132.

*Penulis korespondensi. Email: allen.kurniawan@gmail.com.

Diterima: 1 Juli 2014

Disetujui: 20 Agustus 2014

Abstrak

Sektor pertambangan minyak bumi dan gas cenderung menghasilkan limbah yang dipersepsikan sebagai salah satu sumber pencemaran lingkungan. Menurut Keputusan Menteri Lingkungan Hidup Nomor 128/2003, proses bioremediasi merupakan teknologi alternatif untuk meminimalisasi dan memulihkan lahan tercemar dengan melibatkan aktivitas mikroorganisme hingga persyaratan konsentrasi akhir limbah minyak bumi berupa Total Petroleum Hydrocarbons (TPH) kurang dari 1%. Pemilihan mikroorganisme indigenous pada konsentrasi substrat kecil diharapkan menghasilkan nilai saturasi substrat terkecil sehingga tingkat afinitas tertinggi dapat diperoleh. Tujuan penelitian ini mencari dan mengidentifikasi isolat mikroorganisme petrofilik dari contoh uji hasil proses bioremediasi pada konsentrasi TPH 1%, menentukan nilai parameter kinetika biodegradasi, dan mengaplikasikan mikroorganisme terpilih pada proses bioremediasi tipe landfarming. Tahap isolasi dan identifikasi bakteri indigenous menghasilkan isolat bakteri *Pseudomonas putida* AK.A dan *Pseudomonas diminuta* AK.B. Penentuan kinetika biodegradasi dilakukan pada setiap jenis isolat dan kultur tercampur. Nilai laju pertumbuhan spesifik (μ), laju pertumbuhan spesifik maksimum (μ_{max}), konsentrasi setengah jenuh (K_s), koefisien produksi sintesis sel (Y), laju utilisasi substrat spesifik (q), laju utilisasi substrat spesifik maksimum (q_{max}), dan koefisien kematian indigenous (k_d) pada *P. putida* AK.A berturut-turut sebesar 0,0679-0,0788/jam; 0,078/jam; 0,0152%; 0,1011; 0,6716-0,7794/jam; 0,76/jam; 0,0085/jam; *P. diminuta* AK.B sebesar 0,0754-0,0874/jam; 0,0873/jam; 0,0182%; 0,1246; 0,7458-0,8645/jam; 0,701/jam; 0,0058/jam; dan kultur tercampur sebesar 0,0825-0,0948/jam 0,0945/jam; 0,016%; 0,2257; 0,8160-0,9377/jam; 0,419/jam; 0,0035/jam. Kultur tercampur digunakan pada reaktor landfarming skala laboratorium. Berdasarkan hasil penelitian, isolat bakteri *Pseudomonas* dalam kultur tercampur dapat menurunkan konsentrasi TPH di bawah 1%, dengan efisiensi sebesar 87,4% dalam jangka waktu satu bulan.

Kata kunci: biodegradasi, bioremediasi, landfarming, limbah minyak bumi, pseudomonas.

Abstract

The mining sector of oil and gas are likely to generate waste which is perceived as a source of environmental pollution. According to "Keputusan Menteri Lingkungan Hidup No. 128/2003" (Environmental Ministry Decree), the process of bioremediation is an alternative technology to minimize and recover land which polluted by microorganism activities until the final requirements of petroleum waste concentration is less than 1%. Indigenous microorganisms elected on small substrate concentrations are expected to get the smallest saturation value of the substrate so the highest affinity level can be obtained. The purpose of the research sought and identified petrofilic microorganisms isolated by bioremediation process resulted of 1% Total Petroleum Hydrocarbons concentration, determined the value of biodegradation kinetic parameters, and applied the microorganisms selected on bioremediation process of landfarming. The isolation and identification of indigenous bacteria process produced *Pseudomonas putida* AK.A and *Pseudomonas diminuta* AK.B. Determination of biodegradation kinetics was performed on each isolate and mixed culture. The value of specific growth rate (μ), maximum specific growth rate (μ_{max}), the concentration of half saturation (K_s), the synthesis of cell production coefficient (Y), specific substrate utilization rate (q), maximum specific substrate utilization rate (q_{max}), and endogenous decay coefficient (k_d) for *P. putida* AK.A are 0.0679-0.0788/hour; 0.078/hour; 0.0152%; 0.1011; 0.6716-0.7794/hour; 0.76/hour; 0.0085/hour; *P. diminuta* AK.B are 0.0754-0.0874/hour; 0.0873/hour; 0.0182%; 0.1246; 0.7458-0.8645/hour; 0.701/hour; 0.0058/hour; meanwhile for mix culture are 0.0825-0.0948/hour; 0.0945/hour; 0.016%; 0.2257; 0.8160-0.9377/hour; 0.419/hour; 0.0035/hour. The mixed culture bacteria was used on landfarming reactor. Based on the results, isolates of *Pseudomonas* bacteria in mixed cultures can reduce TPH concentrations below 1% at landfarming reactor.

Keywords: biodegradation, bioremediation, landfarming, petroleum waste, pseudomonas.

PENDAHULUAN

Produk sampingan berupa limbah minyak bumi (*oil sludge*) dari sektor pertambangan terutama minyak bumi dan gas (migas) dihasilkan dari proses eksplorasi hingga proses pengilangan. Limbah minyak bumi tidak hanya mengandung bahan organik dan anorganik, juga mengandung bakteri, virus, minyak dan lemak, serta nutrisi seperti nitrogen, fosfor, logam berat, dan senyawa organoklorin (Asia dkk., 2006). Setiap komponen dari lumpur tersebut memiliki dampak negatif bagi lingkungan sehingga proses bioremediasi digunakan sebagai alternatif teknologi untuk meminimalisasi dan memulihkan lahan tercemar dengan bantuan aktivitas mikroorganisme. Kontaminan tersebut diolah dan direduksi hingga konsentrasi *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH) mempunyai persyaratan nilai akhir kurang dari 1% sesuai dengan Keputusan Menteri Lingkungan Hidup Nomor 128 Tahun 2003 tentang Tata Cara dan Persyaratan Teknis Pengolahan Limbah Minyak Bumi dan Tanah Terkontaminasi oleh Minyak Bumi Secara Biologis.

Proses biodegradasi polutan di lingkungan bersifat kompleks secara kuantitatif dan kualitatif, tergantung pada sifat dan jumlah polutan, kondisi lingkungan ambien dan musiman, serta komunitas mikroorganisme *indigenous* (Ekpo dan Udofia, 2008). Pemilihan tepat jenis mikroorganisme mendukung keberlangsungan proses degradasi limbah minyak bumi dalam waktu singkat. Nilai saturasi substrat terkecil dapat diperoleh melalui pemilahan bakteri *indigenous* pada konsentrasi substrat kecil sehingga laju afinitas mikroorganisme terhadap substrat besar. Berdasarkan deskripsi tersebut, tujuan penelitian ini mencari dan mengidentifikasi isolat mikroorganisme petrofilik dari contoh uji hasil proses bioremediasi pada konsentrasi TPH di bawah 1%, menentukan nilai parameter kinetika biodegradasi, dan mengaplikasikan mikroorganisme terpilih pada proses bioremediasi tipe *landfarming* skala laboratorium.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan contoh uji berupa media tanah hasil pengolahan bioremediasi dengan konsentrasi maksimum TPH sebesar 1% dari PT. Kaltim Prima Coal (KPC) di Sangatta, Kalimantan Timur. Proses bioremediasi harus dilakukan akibat tumpahan minyak ataupun pelumas pada gudang atau *workshop* perusahaan.

Tahapan awal penelitian ini adalah persiapan dan sterilisasi alat-alat penelitian, pengambilan contoh uji, dan penentuan kandungan TPH (%)

awal. Tahap lanjutan berupa isolasi bakteri menggunakan media *Nutrient Agar* (NA) dan *Solution Base Salt* (SBS). SBS terdiri atas 0,135 g KH_2PO_4 ; 0,45 g K_2HPO_4 ; 0,135 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 0,06 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; untuk dilarutkan di dalam 500 mL air suling. Proses isolasi menggunakan teknik agar tuang (*pour plate*) dan *four quadrant streak* sehingga isolat murni dihasilkan dengan karakteristik morfologi homogen dan jumlah populasi dominan. Kemudian, aktivasi dan adaptasi pada fase cair dilakukan untuk mengadaptasikan bakteri dalam komposisi minimum pada proses degradasi kandungan TPH dan mengurangi durasi fase lag pada proses kurva pertumbuhan bakteri. Konsentrasi awal isolat sebesar 10% (v/v) dari tahap pengayaan diinokulasikan dalam media minimum cair sebanyak 50 mL dan dikocok di *rotary shaker* pada temperatur ruang.

Konsentrasi substrat diketahui saat spesies mikroorganisme turut terlibat dalam proses biodegradasi (Abbasi dan Shquirat, 2007). Kurva pertumbuhan bakteri dibuat untuk memperoleh umur inokulum paling efektif sebagai komponen optimasi uji biodegradasi. Tahap ini menggunakan metode tidak langsung berdasarkan tingkat turbiditas melalui alat spektrofotometer dengan panjang gelombang 610 nm dan durasi sekitar 12-24 jam di dalam erlenmeyer pada kecepatan *rotary shaker* 120 rpm. Intensitas pengukuran setiap satu jam sekali sehingga nilai konstanta laju pertumbuhan (μ) diperoleh dengan memplotkan nilai *optical density* pada fase eksponensial. Cakupan penentuan kinetika biodegradasi adalah nilai laju pertumbuhan spesifik (μ), laju pertumbuhan spesifik maksimum (μ_{max}), konsentrasi saturasi setengah jenuh (K_s), koefisien produksi sintesis sel (Y), laju utilisasi substrat spesifik (q), laju utilisasi substrat spesifik maksimum (q_{max}), dan koefisien kematian *indigenous* (k_d).

Tahap identifikasi isolat dilakukan melalui dua tahap, yaitu tahap uji morfologi dan uji biokimia. Uji morfologi dilakukan melalui tahap pewarnaan gram serta endospora untuk mengamati bentuk isolat dan pengamatan visual secara mikroskopis pada media pertumbuhan cair maupun agar miring. Uji biokimia dilakukan melalui 15 tahap sehingga jenis isolat dapat diketahui.

Tahap terakhir adalah uji biodegradasi TPH pada reaktor *landframing* skala laboratorium menggunakan isolat dalam kultur tercampur sebesar 1% (v/v). Media pendukung berupa *bulking agent* jenis serat tandan kosong kelapa sawit sebesar 1% (v/v), nutrisi tambahan berupa pupuk NPK dengan komposisi 16% nitrogen, 16% fosfor, dan 16% kalium, serta pupuk urea dengan

komposisi 46% nitrogen. Air diberikan melalui penyemprotan ke seluruh area tanah setiap dua kali dalam seminggu sehingga kelembapan dapat dipertahankan sebesar 40-70% dan kondisi aerob tetap terjaga. Kondisi pH dan temperatur diatur pada kisaran 5-9 dan suhu ruang.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan identifikasi bakteri

Proses isolasi bakteri *indigenus* dilakukan pada media SBS hingga diperoleh dua jenis isolat yang mempunyai bentuk keseragaman morfologi. Hasil proses identifikasi kedua isolat melalui teknik pewarnaan gram dan endospora bersifat gram negatif, berbentuk batang, dan tidak menghasilkan spora, sedangkan hasil uji biokimia melalui beberapa tahap pengujian berupa dua isolat pada satu genus, tetapi berbeda spesies. Tabel 1 menunjukkan ciri-ciri biokimia hasil tahap pengujian Berdasarkan Cowan (1975), isolat tersebut bernama bakteri *Pseudomonas putida* AK.A dan *Pseudomonas diminuta* AK.B (Gambar 1).

Tabel 1. Hasil uji biokimia dan morfologi isolat bakteri.

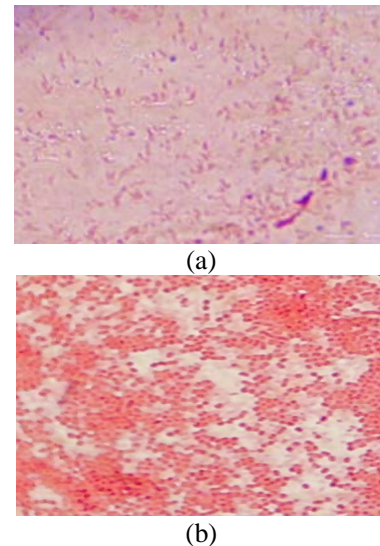
Pengujian	Reaksi	
	<i>P. putida</i> AK.A	<i>P. diminuta</i> AK.B
Hidrolisa pati	-	-
Hidrolisa kasein	-	+
Indol	-	-
Reduksi nitrat	+	-
Fermentasi glukosa	+	-
Fermentasi laktosa	-	-
Fermentasi sukrosa	-	-
Fermentasi mannitol	+	-
Sitrat	+	+
Katalase	+	-
Urease	+	-
H ₂ S	-	-
Metil merah	-	-
Vogus proskauer	-	-
Hidrolisa gelatin	-	+

Kurva pertumbuhan dan penentuan parameter kinetika biodegradasi

Model kinetika disusun berdasarkan mekanisme reaksi biodegradasi melalui tahap proses hidrolisis, proses pemanfaatan substrat hasil hidrolisis dan pembentukan gas metana. Model tersebut disusun berdasarkan asumsi awal bahwa distribusi mikroorganisme dalam sistem relatif seragam dan tercampur (Ahmad, 2003).

Pertumbuhan bakteri merupakan aspek paling penting dalam proses bioremediasi dengan tahapan pengukuran berdasarkan konsentrasi sel (jumlah sel per satuan isi biakan), atau densitas sel (berat kering dari sel-sel per satuan sel biakan) sebagai ukuran konsentrasi sel. Pertumbuhan bakteri *P. putida* AK.A, *P. diminuta* AK.B, dan kultur tercampur dinyatakan dalam konsentrasi biomassa sel (X) dengan satuan *optical density* berdasarkan pengukuran pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 610 nm. Variasi konsentrasi TPH sebagai substrat diujicobakan antara 0,1% hingga 0,7%.

Hasil pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer menghasilkan proses adaptasi (*lag*) singkat karena fase ini diperkirakan telah



Gambar 1. Morfologi isolat bakteri (a) *P. putida* AK.A dan (b) *P. diminuta* AK.B.

Tabel 2. Nilai pertumbuhan spesifik (μ) isolat dan kultur tercampur.

Konsentrasi TPH (%)	Nilai pertumbuhan spesifik (jam^{-1})		
	<i>P. putida</i> AK.A	<i>P. diminuta</i> AK.B	Kultur tercampur
0,1	0,0679	0,0754	0,0825
0,2	0,0688	0,0766	0,0833
0,3	0,0700	0,0779	0,0896
0,4	0,0728	0,0824	0,0885
0,5	0,0739	0,0864	0,0898
0,6	0,0788	0,0894	0,0937
0,7	0,0788	0,0874	0,0948

terlewat saat proses adaptasi dan aktivasi pada kultur cair, sebelum proses analisis kurva tumbuh dilakukan. Dengan demikian, laju pertumbuhan bakteri *P. putida* AK.A dan *P. diminuta* AK.B sangat cepat pada rentang waktu beberapa jam. Menurut Effendi (2006), ketika kurva tumbuh diperoleh dengan memasukkan data pada kertas semilog, maka μ dihitung menggunakan analisis korelasi *least-square*. Ketika persamaan linear digambarkan berdasarkan hubungan X terhadap waktu, kemiringan (*slope*) dari kurva tersebut merupakan μ . Tabel 2 memperlihatkan nilai μ pada isolat tunggal maupun kultur tercampur. Nilai X menurun disebabkan kelangsungan hidup sel. Nilai viabilitas kurang dari 100% menghasilkan nilai X kurang dari konsentrasi sel awal (Pazouki dkk., 2008).

Nilai μ tergantung dari jumlah konsentrasi pembatas nutrisi (*limiting nutrient*) yang berfungsi sebagai sumber karbon, penerima elektron, sumber nitrogen, dan berbagai faktor yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk berkembang (Grady dkk., 1999), sedangkan hasil biomassa adalah fungsi dari perubahan massa total substrat (Reardon dkk., 2002) Pernyataan tersebut merupakan dasar konsep kinetika pertumbuhan mikroorganisme dan dituangkan ke dalam model *Persamaan Monod*. Persamaan tersebut menjabarkan peningkatan μ seiring dengan kenaikan konsentrasi substrat dan melambat mendekati *nilai pertumbuhan spesifik maksimum* (μ_{max}). Pada saat konsentrasi substrat berada pada kondisi μ sama dengan setengah μ_{max} , maka *konsentrasi saturasi setengah jenuh* (K_S) dapat diketahui. Ada tiga metode plotting untuk memperoleh estimasi koefisien μ_{max} dan K_S dari

Persamaan Monod, yaitu Metode *Burk-Lineweaver*, *Eadie-Hofstee*, dan *Langmuir* (Doran, 1995). Bentuk matematis dari *Burk-Lineweaver Plotting* adalah:

$$\frac{1}{\mu} = \frac{K_S}{\mu_{max}} \frac{1}{S} + \frac{1}{\mu_{max}} \tag{1}$$

Bentuk matematis *Eadie-Hofstee Plotting* adalah:

$$\frac{\mu}{S} = \frac{\mu_{max}}{K_S} - \frac{\mu}{K_S} \tag{2}$$

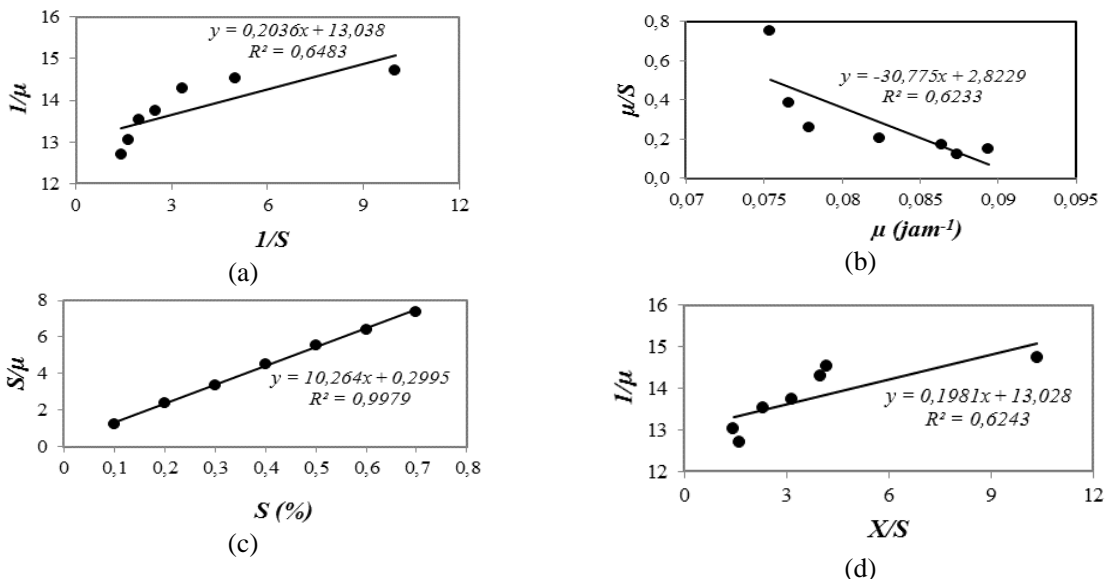
Bentuk matematis *Langmuir Plotting* adalah:

$$\frac{S}{\mu} = \frac{K_S}{\mu_{max}} + \frac{S}{\mu_{max}} \tag{3}$$

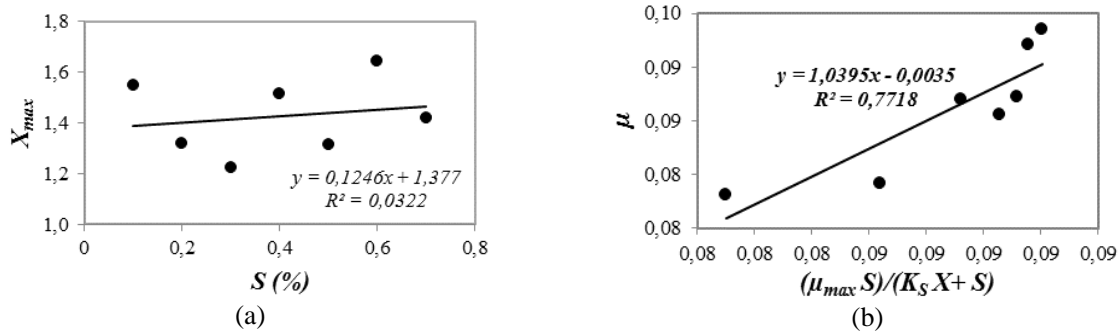
Menurut Shuler dan Kargi (2002), selain Persamaan Monod dengan tiga metode *plotting* yang telah dijabarkan di atas, *Persamaan Contois* dapat diusulkan untuk menggambarkan fase pertumbuhan pembatas substrat. Persamaan Contois mempunyai perbandingan saturasi konstan untuk konsentrasi sel yang menggambarkan pertumbuhan pembatas substrat pada densitas sel tinggi. Berdasarkan persamaan tersebut, laju pertumbuhan spesifik dan konsentrasi substrat mengalami penurunan dan diakhiri oleh hubungan perbandingan terbalik terhadap konsentrasi sel di dalam media. Bentuk Persamaan Contois adalah:

$$\mu = \frac{\mu_{max} S}{K_S X + S} \tag{4}$$

Kurva pada Gambar 2 memperlihatkan contoh dari aplikasi ke empat persamaan di atas. Hasil perhitungan pada Tabel 3 menunjukkan konsentrasi setengah jenuh (K_S) seluruhnya berada di bawah variasi konsentrasi TPH. Nilai K_S terbaik diperoleh dari Persamaan Contois walaupun besar perbedaan nilai K_S tidak



Gambar 2. Contoh variasi model penentuan K_S dan μ_{max} (a) Lineveaver-Burk Plotting, (b) Eadie-Hofstee Plotting, (c) Langmuir, dan (d) Contois.



Gambar 3. Contoh kurva (a) penentuan nilai Y dan (b) penentuan K .

terlampau besar jika dibandingkan persamaan Monod. Nilai K_S pada penelitian ini lebih baik dari penelitian Effendi (2006) sebesar 0,039% pada konsorsium A; 0,081% pada konsorsium B; dan 0,073% pada kultur tercampur. Perbedaan nilai K_S disebabkan oleh karakteristik setiap isolat bakteri. Nilai K_S merupakan elemen esensial di dalam proses biodegradasi karena K_S menunjukkan hubungan nilai afinitas dan laju pertumbuhan sel bakteri. Dari hasil penelitian, nilai K_S rendah mengindikasikan bakteri *Pseudomonas* memiliki afinitas tinggi terhadap konsentrasi substrat sehingga laju pertumbuhan bakteri tidak akan terpengaruh terhadap jumlah konsentrasi TPH (Okpokwasili dan Nweke, 2005).

Menurut Tribuwono (2006), substrat pembatas pertumbuhan mikroorganisme mencapai konsentrasi biomassa maksimum (X_{max}) saat mendekati akhir fase pertumbuhan menurun (*declaining-growth phase*). Pada titik ini, konsentrasi substrat pembatas pertumbuhan diasumsikan nol ($S \sim 0$) sehingga perbandingan X_{max} dengan S menghasilkan regresi linier dengan koefisien produksi sintesis sel (Y) sebagai kemiringan (*slope*). Koefisien ini diartikan sebagai nilai pembentukan produksi biomassa per unit sisa substrat ketika seluruh energi digunakan untuk proses sintesis (Grady dkk., 1999). Gambar 3 (a) dan Tabel 4 menunjukkan contoh kurva dan hasil perhitungan Y . Nilai Y pada kultur tercampur sebesar 0,2557 memiliki nilai tertinggi

dibandingkan dengan koefisien Y pada kedua isolat tunggal. Peningkatan nilai Y disebabkan perolehan biomassa meningkat dengan ditandai kenaikan rasio konsentrasi oksigen dan nitrogen di dalam tanah. Menurut Ibrahim dkk. (2009), hal tersebut disebabkan proses asimilasi reduksi nitrat jika tidak tersedia sumber nitrogen lain selain nitrat. Dalam kondisi ini, N-nitrat dikonversi menjadi N-amonia untuk digunakan sebagai komponen sel dalam biosintesis.

Salah satu prinsip pengolahan bioremediasi menitikberatkan kepada reduksi konsentrasi substrat. Oleh karena itu, nilai q dan q_{max} pada proses biologis dimodelkan mengikuti konsentrasi substrat terlarut. Bakteri akan tumbuh pada nilai maksimum ketika substrat digunakan juga dalam konsentrasi maksimum (Tchobanoglous dkk., 2003) sehingga nilai μ selalu berhubungan dengan nilai q dan dituangkan pada bentuk Persamaan 5:

$$q = \frac{\mu}{Y} \quad (5)$$

Untuk nilai maksimum, Persamaan 5 berubah menjadi:

$$q_{max} = \frac{\mu_{max}}{Y} \quad (6)$$

Tabel 3 menunjukkan nilai q terbaik sebesar 0,816-0,9377 jam^{-1} saat kedua isolat berada pada satu kultur tercampur. Hal tersebut menunjukkan laju penggunaan (utilisasi) substrat spesifik berbanding terbalik dengan nilai K_S .

Tabel 3. Koefisien kinetika pertumbuhan isolat bakteri.

Jenis bakteri	Persamaan	μ_{max} (jam^{-1})	K_S (%)	
<i>P. putida</i> AK.A	Monod	Lineweaver-Burk	0,0767	0,0156
		Eadie-Hofstee	0,0795	0,0261
		Langmuir	0,0811	0,0358
	Contois		0,0768	0,0152
<i>P. diminuta</i> AK.B	Monod	Lineweaver-Burk	0,0879	0,0199
		Eadie-Hofstee	0,0917	0,0325
		Langmuir	0,0928	0,0393
	Contois		0,0873	0,0182
Kultur tercampur	Monod	Lineweaver-Burk	0,0939	0,016
		Eadie-Hofstee	0,0962	0,0229
		Langmuir	0,0974	0,0292
	Contois		0,0945	0,016

Tabel 4. Rekapitulasi lengkap nilai parameter kinetika biodegradasi.

Parameter	Jenis isolat bakteri		
	<i>P. putida</i> AK.A	<i>P. diminuta</i> AK.B	Kultur tercampur
μ (jam ⁻¹)	0,0679-0,0788	0,0754-0,0874	0,0825-0,0948
μ_{max} (jam ⁻¹)	0,0768	0,0873	0,0945
K_S (%)	0,0152	0,0182	0,016
Y	0,1011	0,1246	0,2257
q (jam ⁻¹)	0,6716-0,7794	0,7458-0,8645	0,816-0,9377
q_{max} (jam ⁻¹)	0,76	0,701	0,419
k_d (jam ⁻¹)	0,0085	0,0058	0,0035

Nilai K_S semakin kecil, maka nilai q semakin besar mengikuti kenaikan konsentrasi substrat. Di dalam setiap proses, tidak semua sel bakteri berada pada fase pertumbuhan, tetapi terdapat pula sel bakteri berada pada fase kematian dan melakukan respirasi. Faktor ini menyebabkan massa sel menurun dan proporsional terhadap reduksi konsentrasi mikroorganisme sehingga laju kematian mikroorganisme (k_d) diperoleh dari Persamaan 7 (Tchobanoglous dkk., 2003).

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{K_S + S} - k_d \quad (7)$$

Persamaan 7 diplotkan dalam Gambar 3 (b) sehingga koefisien k_d diperoleh dari gradien kurva. Nilai k_d untuk *P. putida* AK.A sebesar 0,0085/jam; *P. diminuta* AK.B sebesar 0,0058/jam; dan kultur tercampur sebesar 0,0035/jam. Tabel 3 memperlihatkan k_d kultur tercampur mempunyai nilai terkecil sebesar 0,0035/jam sehingga penggunaan energi mikroorganisme *indigenus* dan kemampuan mikroorganisme untuk mengkonsumsi substrat rendah (Ibrahim dkk., 2009). Rittmann dan McCarthy (2001) menambahkan bahwa besar nilai k_d tergantung dari tipe jenis spesies mikroorganisme dan temperatur. Nilai k_d juga cenderung mempunyai korelasi positif terhadap nilai μ_{max} . Kecenderungan nilai k_d sebesar 0,0058/jam dan 0,0085/jam menunjukkan bakteri *Pseudomonas* merupakan bakteri aerobik heterotrof. Hal ini dibuktikan bahwa bakteri aerobik heterotrof mempunyai nilai k_d sebesar 0,1-0,3/hari pada temperatur 20 °C.

Aplikasi kultur tercampur pada reaktor skala laboratorium.

Penggunaan kultur tercampur menunjukkan kemampuan lebih baik dalam mekanisme proses bioremediasi pada tanah terkontaminasi walaupun tingkat afinitas kultur tercampur lebih rendah dibandingkan afinitas isolat tunggal *Pseudomonas*. Menurut Notodarmojo (2005), keuntungan penggunaan kultur tercampur, antara lain degradasi dapat dilakukan secara beruntun, laju degradasi substrat meningkat secara keseluruhan, proses oksidasi lebih baik karena

dapat mencari jalur atau proses termodinamik yang paling mudah, dan kebutuhan zat atau enzim dapat disintesis.

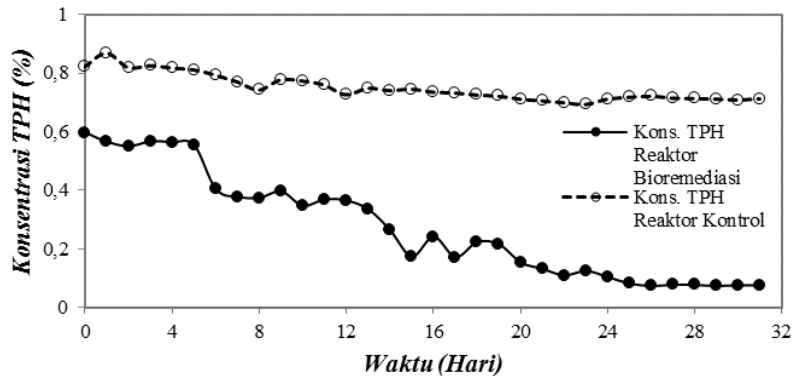
Pada penelitian ini, reaktor *batch* skala laboratorium dibuat dalam dua perlakuan berbeda. Perlakuan pertama adalah reaktor bioremediasi jenis *landfarming* ketika media tanah tercampur dengan kultur tercampur bakteri, serat tandan kosong kelapa sawit, pupuk urea, dan pupuk NPK. Perlakuan kedua adalah reaktor kontrol tanpa adanya perlakuan khusus. Pengukuran TPH dilakukan setiap hari selama satu bulan sehingga menghasilkan perbedaan pola laju penurunan pada kedua perlakuan. Gambar 4 memperlihatkan laju penurunan signifikan TPH sebesar 87,4% selama 31 hari pada reaktor *landfarming* setelah penambahan isolat bakteri *Pseudomonas*. Penurunan ini diakibatkan reaksi biologis yang ditandai penggunaan substrat secara optimum oleh bakteri untuk melakukan aktivitas sintesis material baru. Laju penurunan konsentrasi TPH pada reaktor kontrol berjalan sangat lambat sehingga efisiensi penurunan TPH selama 31 hari sebesar 13,3%. Jika jenis spesies semakin beragam tanpa adanya perlakuan khusus, maka proses utilisasi substrat menjadi semakin bervariasi. Akibatnya, waktu degradasi polutan menjadi sangat lama. Menurut Helmy (2006), penurunan konsentrasi TPH pada reaktor tanpa penambahan inokulum disebabkan oleh pengaruh faktor fisik, misalnya pengaruh pengocokan pada media *shaker*, temperatur ruangan, serta foto oksidasi sinar matahari. Proses ini disebut *weathering*. Proses ini menghasilkan senyawa dengan berat molekul rendah (*volatile hydrocarbons*) dan mudah menguap.

Laju penurunan substrat berupa konsentrasi TPH diikuti oleh kenaikan jumlah populasi mikroorganisme dan melibatkan substrat sebagai sumber energi dan karbon. Jumlah isolat bakteri tercampur *Pseudomonas* dihitung menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) melalui durasi pengukuran setiap empat hari selama satu bulan. Hubungan antara laju penurunan konsentrasi TPH dan kenaikan jumlah bakteri dapat dilihat dalam Gambar 5.

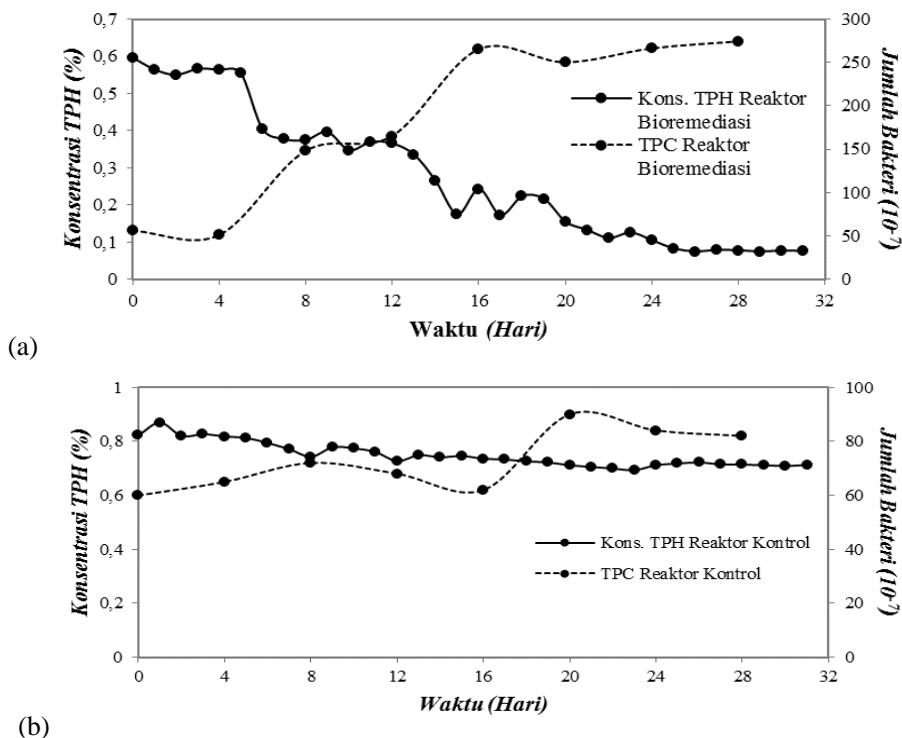
Jumlah populasi bakteri setelah penambahan isolat bakteri dalam proses bioremediasi memberikan pengaruh signifikan terhadap laju penurunan TPH. Bakteri akan membentuk preferensi untuk memilih substrat sehingga jalur reaksi degradasi (*pathway*) tercipta dari kontaminan polutan hidrokarbon. Hal tersebut ditunjukkan dengan lonjakan drastis populasi bakteri dari 51×10^7 hingga 265×10^7 . Kenaikan jumlah populasi bakteri pada reaktor kontrol berjalan statis. Secara alamiah selama satu bulan, laju kenaikan jumlah populasi bakteri tertinggi hanya berkisar antara 60×10^7 hingga 90×10^7 . Pada reaktor kontrol ini, aktivitas alami bakteri *indigenous* di dalam tanah sebenarnya telah terdeteksi dan mempunyai kemampuan untuk memanfaatkan polutan hidrokarbon sebagai sumber makanan. Namun, kemampuan bakteri

tersebut masih bersifat laten atau belum terekspresikan keluar (Helmy, 2006).

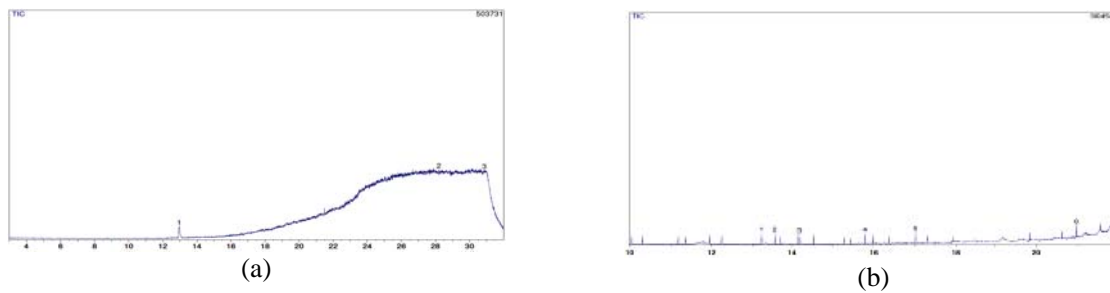
Kemampuan bakteri mendegradasi substrat tidak hanya dilihat dari pola penurunan konsentrasi TPH dari awal hingga akhir pada proses perlakuan, tetapi dapat juga dilihat dari hasil pengujian *Gas Chromatography-Mass Spectroscopy* (GC-MS) berdasarkan pembentukan produk akhir metabolisme maupun metabolit antara. Analisis GC-MS dilakukan sebanyak dua kali pada awal dan akhir perlakuan. Hasil perbandingan profil kromatogram menunjukkan degradasi senyawa hidrokarbon berantai panjang dan membentuk rantai senyawa hidrokarbon lebih pendek. Kedua contoh uji pada profil kromatogram dalam Gambar 6 menunjukkan pengurangan luas area dari kurva dan indikasi penurunan konsentrasi hidrokarbon.



Gambar 4. Laju penurunan konsentrasi TPH terhadap waktu.



Gambar 5. Hubungan laju konsentrasi TPH terhadap populasi bakteri pada (a) reaktor bioremediasi dan (b) reaktor kontrol.



Gambar 6. Profil kromatogram contoh uji tanah di (a) awal perlakuan dan (b) akhir perlakuan.

KESIMPULAN

Isolat bakteri *indigenus* tanah dari proses isolasi dan identifikasi adalah *P. putida* AK.A dan *P. diminuta* AK.B. Penentuan parameter kinetika biodegradasi dilakukan untuk kedua jenis isolat tersebut dan kultur tercampur. Nilai parameter kinetika menunjukkan kecenderungan konsentrasi setengah jenuh (K_s) *Pseudomonas* rendah pada konsentrasi substrat kecil sehingga laju afinitas mikroorganisme tinggi. Hal tersebut mengakibatkan laju pertumbuhan (μ) tidak akan berpengaruh terhadap jumlah konsentrasi TPH. Isolat *P. putida* AK.A menunjukkan nilai penggunaan substrat (q) terbaik pada saat K_s rendah sehingga pertumbuhan mikroorganisme akan mencapai nilai maksimum terbesar bila dibandingkan dengan *P. diminuta* AK.B dan kultur tercampur. Kondisi ini sejalan dengan nilai koefisien kematian *indigenus* (k_d) ketika *P. Putida* AK.A memiliki nilai k_d terbesar sehingga penggunaan energi mikroorganisme *indigenus* dan kemampuan mikroorganisme untuk mengkonsumsi substrat tinggi. Kultur tercampur digunakan dalam uji biodegradasi pada reaktor *landfarming* skala laboratorium. Laju penyisihan selama satu bulan berhasil mereduksi konsentrasi TPH di atas 80%.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbasi, B.E., dan Shquirat, W.D., 2007. Kinetics of Indigenous Isolated Bacteria Used for Ex-situ Bioremediation of Petroleum Contaminated Soil. *American-Eurasian J. Agricul. & Environ. Sci.* 2(6):761-766.
- Ahmad, A., 2003. Penentuan Parameter Kinetika Proses Biodegradasi Anaerob Limbah Cair Pabrik Kelapa Sawit. *Jurnal Natur Indonesia*; 6(1):45-48.
- Asia, I.O., Enweani, I.B., dan Eguavoen I.O., 2006. Characterization and Treatment of Sludge from the Petroleum Industry. *African J. Biotechn.* 5(5):461-466.
- Cowan, S.T. 1975. *Manual for the Identification of Medical Bacteria*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Doran, P.M., 1995. *Bioprocess Engineering Principles*. Academic Press, Oxford.
- Effendi, A.J., 2006. Treatibility Test of Oil-Contaminated Soil Using Bio-Augmented Bacteria. *Jurnal Infrastruktur dan Lingkungan Binaan*, 2(2):41-47.
- Ekpo, M.A., dan Udofia, U.S., 2008. Rate of Biodegradation of Crude Oil by Microorganisms Isolated from Oil Sludge Environment. *African Journal of Biotechnology*; 7(24):4495-4499.
- Grady Jr., C.P.L., Daigger, G.T., dan Lim, H.C., 1999. *Biological Wastewater Treatment*. Marcel Dekker, New York.
- Helmy, Q., 2006. Pengaruh Penambahan Surfaktan Terhadap Biodegradasi Sludge Minyak Bumi Oleh Konsorsium Bakteri Petrofilik. *Tesis*, Fakultas Teknik Sipil dan Lingkungan ITB, Bandung.
- Ibrahim, B., Erungan A.C., dan Heriyanto, 2009. Nilai Parameter Biokinetika Proses Denitrifikasi Limbah Cair Industri Perikanan pada Rasio COD/TKN yang Berbeda. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*; 12(1):31-45.
- Notodarmojo, S., 2005. *Pencemaran Tanah dan Air Tanah*, Penerbit ITB, Bandung.
- Okpokwasili, G.C., dan Nweke C.O. 2005. Microbial Growth and Substrate Utilization Kinetics. *African Journal of Biotechnology*; 5(4):305-317.
- Pazouki, M., Najafpour, G., dan Hosseini, M.R., 2008. Kinetic Models of Cell Growth, Substrate Utilization and Bio-decolorization of Distillery Wastewater by *Aspergillus fumigatus* U_{B260}. *African Journal of Biotechnology*; 7(9):1369-1376.
- Reardon, K.F., Mosteller, D.C., Rogers, J.B., DuTeau, N.M., dan Kim, K., 2002. Biodegradation Kinetics of Aromatic Hydrocarbon Mixtures by Pure and Mixed Bacterial Cultures. *Environmental Health Perspectives*; 110(6):1005-1011.

- Rittmann, B.E., dan McCarthy, P.L., 2001. *Environmental Biotechnology*, McGraw-Hill, Singapura.
- Schuler, M.L., dan Kargi, F. 2002. *Bioprocess Engineering Basic Concepts*. Prentice Hall, New Jersey.
- Tchobanoglous, G., Burton, F.L., dan Stensel, H.D., 2003. *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*. Edisi 4, McGraw-Hill, New York.
- Tribuwono, B.R., 2006. Kinetika Biodegradasi Limbah Minyak Bumi Menggunakan Reaktor Batch Bioslurry. *Skripsi*, Fakultas Arsitektur Lansekap dan Teknologi Lingkungan Universitas Trisakti, Jakarta.