Penerbit
Tohar Media

ISMAIL MARZUKI

**APLIKASI MIKROSIMBION SPONS
DALAM BIOREMEDIASI LINGKUNGAN**

Kemaritiman dan Lingkungan

**APLIKASI MIKROSIMBION SPONS
DALAM BIOREMEDIASI LINGKUNGAN**

Penulis
Ismail Marzuki

Tim Editor

Prof. Dr. Alfian Noor, M.Sc
Dr. Lukman Daris, S.Pi., M.Si
Sattar, S.Pd.,ST., M.Si., Ph.D

Penerbit
TOHAR MEDIA

APLIKASI MIKROSIMBION SPONS DALAM BIOREMEDIASI LINGKUNGAN

Penulis :

Ismail Mazuki

Editor :

Prof. Dr. Alfian Noor, M.Sc
Dr. Lukman Daris, S.Pi., M.Si
Sattar, S.Pd., ST., M.Si., Ph.D

ISBN

978-623-91288-3-8

Desain Sampul dan Tata Letak

Ai Siti Khairunisa

Penerbit

CV. Tohar Media

Anggota IKAPI No. 022/SSL/2019

Redaksi :

JL. Rappocini Raya Lr 11 No 13 Makassar
JL. Hamzah dg. Tompo. Perumahan Nayla Regency Blok D No.25 Gowa
Telp. 0852-9999-3635/0852-4353-7215
Email : toharmedia@yahoo.com
Website : <https://toharmedia.co.id>

Cetakan Pertama Agustus 2019

Hak Cipta dilindungi undang-undang. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh isi buku ini dalam bentuk apapun, baik secara elektronik maupun mekanik termasuk memfotocopy, merekam atau dengan menggunakan sistem penyimpanan lainnya, tanpa izin tertulis dari penerbit.

Undang-undang Nomor 19 Tahun 2002 Tentang Hak Cipta

1. Barang siapa dengan sengaja dan tanpa hak mengumumkan atau memperbanyak suatu ciptaan atau memberi izin untuk itu, dipidana dengan pidana penjara paling lama 7 (Tujuh) tahun dan/atau denda paling banyak **Rp. 5.000.000.000,00 (Lima Miliar Rupiah)**
2. Barang siapa dengan sengaja menyiarkan, memamerkan, mengedarkan, atau menjual kepada umum suatu ciptaan atau barang hasil pelanggaran hak cipta atau hak terkait sebagaimana dimaksud pada ayat 1, dipidana paling lama **5 (lima tahun)** dan/atau denda

Perpustakaan Nasional Republik Indonesia. Data Katalog Dalam Terbitan (KDT)
Aplikasi Mikrosimbion Spons Dalam Bioremediasi Lingkungan

Ismail Marzuki

Makassar, Tohar Media 2019

283 hlm 15,5 x 23 cm

I Judul

II. Tohar Media

Ucapan Terima Kasih:

*Ucapan terima kasih disampaikan kepada Direktur Jenderal
Penguatan Riset dan Pengembangan Sumber Daya Kemenristek
Dikti RI atas pembiayaan penulisan buku ini dengan judul:
APLIKASI MIKROSIMBION SPONS DALAM BIOREMEDIASI
LINGKUNGAN*

*melalui skema
PPT-2017 (Tahun pertama) dan
PSN-2018 (tahun kedua)
PS-2019 (tahun ketiga)
dalam tiga tahun pelaksanaan penelitian.*

Prakata

Potensi pemanfaatan spons sangat luas terutama kandungan zat aktif dalam bidang kesehatan, pemanfaatan mikrosimbion dan biomassa dalam bidang pengolahan limbah hidrokarbon sebagai biodegradator dan penanganan limbah logam berat dengan metode bioabsorpsi, serta potensi pengembangan ekstrak sebagai anti bakteri patogen, biomaterial pada cat, serta potensi zat berperilaku enzim untuk mengatasi keretakan pada tembok, adalah bagian dari sekian banyak pemanfaatan spons.

Aplikasi mikrosimbion spons dalam metode Bioremediasi lingkungan dalam bentuk publikasi buku, diawali ulasan tentang Lingkungan hijau didasari atas rasa kuatir penulis akan masifnya pencemaran lingkungan yang terjadi seiring dinamika kehidupan manusia yang semakin maju, mengakibatkan upaya pengelolaan dan penataan lingkungan menjadi suatu kebutuhan yang tidak dapat dihindari. Sumber pencemaran yang berbahaya adalah limbah dari eksplorasi minyak bumi yang mengandung komponen Polisiklik Aromatik Hidrokarbon (PAH) bersifat karsinogenik dan mutagenik, bahkan limbah tersebut tidak jarang mengandung logam berat toksisitas tinggi, sehingga pencemaran hidrokarbon dianggap sangat ekstrim dan resisten terhadap lingkungan bahkan merupakan ancaman kesehatan manusia dan makhluk lainnya yang menghuni bumi, karenanya limbah jenis ini masuk dalam golongan limbah Bahan Berbahaya dan Beracun (limbah-B3). Uraian tentang potensi bahan alam yang dapat dijadikan biodegradator limbah ekstrim adalah salah satu bentuk keberpihakan penulis terhadap kualitas lingkungan. Eksplorasi tentang mikrosimbion spons dalam metode bioremediasi lingkungan membutuhkan berbagai pengetahuan, kreativitas, wawasan dan metode serta kearifan dalam melakukannya untuk tujuan penerapan dan pengembangan, serta dibutuhkan kolaborasi berbagai disiplin ilmu, peran regulasi pemerintah dan berbagai komitmen investasi untuk menuju pada hasil nyata berupa produk inovasi pada bidang konservasi lingkungan. Hal ini menjadikan spons sebagai hewan yang penting dan patut dilindungi bahkan kedepan bisa jadi merupakan hewan langka yang dikejar-kejar oleh manusia

Buku ini berisi berbagai informasi tentang mikrosimbion spons, fenotip, genotip dan pemanfaatan mikrosimbion spons dalam biodegradasi limbah untuk tujuan pengembangan ilmu khususnya bioremediasi yang dituangkan dalam Bab (I) Remediasi dalam menata lingkungan hijau; (II) Pencemaran Lingkungan; (III) Kontaminan Senyawa Karbon dalam Lingkungan; (IV) Karakterisasi Mikrosimbion Spons dan Aplikasinya dalam Metode Biodegradasi; (V) Metode Biodegradasi Penanganan

Limbah Hidrokarbon; (VI) Parameter Biodegradasi Hidrokarbon; (VII) Biodegradasi Hidrokarbon Alifatik; (VIII) Biodegradasi Polisiklik Aromatik Hidrokarbon; (IX) Aplikasi Mikrosimbion Spons dalam Biodegradasi Pirena, dan (X) Potensi Bahan Alam sebagai Material Biodegradasi Hidrokarbon.

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Bapak Prof. Dr. Alfian Noor, M.Sc, selaku promotor yang telah banyak mendorong penulis untuk membukukan hasil penelitian yang dicapai dan juga kesediaannya menjadi editor dalam penulisan buku ini, Terima kasih pula kepada Bapak Sattar, Ph.D dan Dr. Lukman Daris sebagai anggota editor. Juga kepada Rektor UNIFA yang banyak membantu dan senantiasa mendorong setiap dosen untuk berkarya melalui *Demonstrasi Akademik*. Terkhusus ucapan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Simlitabmas RistekDikti sebagai penyanggah Dana dalam penelitian dan penulisan buku ini dalam skema hibah PPT-2017 dan PSN-2018 dan PS-2019.

Harapan yang ingin dicapai sebagai tujuan dari ditulisnya buku ini, agar masyarakat Indonesia pada khususnya dan populasi dunia pada umumnya dapat memahami dan bijak dalam melakukan eksplorasi dan eksploitasi biota laut, khususnya spons dan mikrosimbionnya, karena kepunahan satu jenis biota laut (spons) berdampak besar pada ekosistem yang membutuhkan waktu sangat panjang dalam pemulihannya, meski proses pemulihan alamiah ada bahkan adanya intervensi teknologi, metode sekalipun yang melibatkan seluruh aspek pengetahuan dan perkembangan ilmu pengetahuan manusia. Bioremediasi lingkungan harus berjalan masif dan maksimal berkontribusi kearah perkembangan ilmu pengetahuan, peningkatan kualitas lingkungan sehingga pada akhirnya berkontribusi dalam meningkatkan kualitas hidup manusia untuk peradaban, amiin.

P e n u l i s,

Ismail Marzuki

Pengantar Editor

Menarasikan pemikiran, gagasan, ide, pengetahuan, seseorang yang dilakukan dengan menulis, baik berupa artikel sederhana, opini, buku, cerpen, hikayat, risalah, biografi dan lain sebagainya adalah sebuah pekerjaan yang tidak gampang dan tidak banyak orang yang dapat mewujudkannya, apalagi jika narasi tersebut berupa teks ilmiah dalam bentuk buku referensi, karena isi dan substansi yang dibahas merupakan capaian penelitian yang didalamnya hanya dapat dilakukan oleh mereka yang memiliki pola konsisten, sistematis, terstruktur dengan wawasan yang memadai pada suatu topik ulasan. Setiap orang yang sehat secara mental, dapat dipastikan memiliki gagasan, namun tidak semua orang dapat mengutarakan gagasan tersebut dalam bentuk tulisan ilmiah yang menghasilkan buku.

Buku ini mengurai dengan jelas tentang mikrosimbion spongs laut dalam aplikasinya terhadap lingkungan dengan metode bioremediasi. Topik-topik yang diangkat dalam Bab per Bab cukup menarik dan relevan untuk kebutuhan lingkungan hijau dewasa ini. Sub-sub tema yang tepat dan spesifik disampaikan dalam bahasa yang lugas, sehingga membacanya tidak lekas menimbulkan kebosanan. Informasi dalam buku ini cukup urgen bagi banyak kalangan, bukan hanya para akademisi, mahasiswa dan pelajar, tetapi dapat menyasar pada banyak pihak sebagai referensi dan juga dapat memenuhi kebutuhan pemerintah pusat dan daerah untuk melahirkan suatu kebijakan terkait dengan penataan lingkungan hijau dan pengelolaan limbah.

Isi buku ini juga sebagai bentuk penyebarluasan hasil-hasil riset yang telah dilakukan selama ini, karenanya buku ini bukan merupakan fiksi, opini atau hayalan, tetapi berupa karya ilmiah yang menyajikan informasi ilmiah dan fakta-fakta riset yang berusaha mengangkat potensi alam hayati laut Indonesia, agar pandangan terhadap biota laut khususnya spongs bukan hanya sekedar objek yang dipandang dan dinikmati keindahannya, akan tetapi sebagai sebuah sosok hewan unik yang memiliki potensi besar apabila dieksplorasi dan dieksploitasi dengan bijak. Mereview informasi yang disajikan dalam buku ini tidak mudah dilakukan karena materi yang tersaji merupakan kolaborasi wawasan pada banyak bidang, seperti mikrobiologi, budidaya, kimia, lingkungan dan bidang lainnya yang terkait, meski demikian buku ini menyuguhkan informasi ilmiah yang dapat menambah khasana dan wawasan kita. Apresiasi kepada Saudara Ismail Marzuki yang mampu menyampaikan temuan-temuan risetnya yang selama ini dilakukan sejak mengikuti pendidikan program doktoral hingga saat ini yang tetap konsisten pada objek penelitian tentang spongs dan aplikasinya pada lingkungan.

E d i t o r,

Alfian Noor

DAFTAR ISI

Halaman Sampul	i
Halaman Penerbit	ii
Ucapan Terima Kasih	iii
Prakata	iv
Pengantar Editor	vi
Daftar Isi	vii
Daftar Tabel	x
Daftar Gambar	xi
BAB 1 Remediasi Dalam Menata Lingkungan Hijau : Sebuah	
Pengantar	1
1.1 Lingkungan Hijau	1
1.2 Framing Edukatif Terhadap Lingkungan Hidup	2
1.3 Peranan Kimia dalam Perspektif Lingkungan Hijau	4
1.4 Berjuang Selamatkan Lingkungan	7
1.5 Mengelola Lingkungan, Tanggumh Jawab Siapa?	11
1.6 Pemulihan (<i>recovery</i>) Lingkungan	13
BAB 2 Pencemaran Lingkungan	17
2.1 Pencemaran	17
2.1.1 Pencemaran Air	18
2.1.2 Pencemaran Tanah	19
2.1.3 Pencemaran Udara	21
2.1.4 Pencemaran Suara	24
2.2 Limbah Bahan Berbahaya dan Beracun	27
2.3 Limbah Radioaktif	31
2.4 Sampah	34
BAB 3 Kontaminan Senyawa Karbon Dalam Lingkungan	37
3.1 Hidrokarbon	37
3.2 Hidrokarbon Alifatik	38
3.2.1 Komponen Kontaminan Alkena	39
3.2.2 Komponen Kontaminan Alkena	41
3.2.3 Pencemaran Suara	43
3.3 Hidrokarbon Aromatik	44
3.4 Pencemaran Minyak Bumi	45
3.4.1 Jenis Hidrokarbon dalam Lingkungan Laut	46
3.4.2 Limbah Sludge Minyak Bumi (SMB)	49
3.4.3 Dampak dari Pencemaran Minyak Bumi	53
3.4.5 Metode Penanggulangan Pencemaran Minyak Bumi	54
BAB 4 Karakteristik mikrosimbion Spons dan Aplikasinya Dalam	
Metode Biodegradasi	63
4.1 Morfologi Spons	63
4.2 Identifikasi Spons dan Mikrosimbion	67
4.3 Biomassa dan Isolasi Mikrosimbion Spons	70

4.4 Morfologi Mikrosimbion (Bakteri) Spons	73
4.5 Analisis Fenotip Mikrosimbion Spons	74
4.5.1 Penentuan Golongan Gram Mikrosimbion	75
4.5.2 Uji Biokimia Mikrosimbion (Bakteri) Spons	77
4.6 Analisis Genotip Bakteri Simbiosis Spons	83
4.7 Preparasi Mikrosimbion Spons Dalam Metode Biodegradasi	86
4.8 Total Plate Count (TPC)	89
4.9 Aplikasi Biomassa dan Mikrosimbion Spons	90
BAB 5 Metode Biodegradasi Penanganan Limbah Hidrokarbon	93
5.1 Lumpur Minyak Bumi	93
5.2 Metode Penanggulangan Pencemaran Minyak Bumi dalam Lingkungan Laut	98
5.3 Biodegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi	99
5.4 Biodegradasi Senyawa Organik	110
5.4.1 Efektivitas Biodegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi	111
5.4.2 Peranan Enzim Dalam Proses Degradasi Limbah Hidrokarbon	112
5.5. Aplikasi Metode Biodegradasi Hidrokarbon Limbah Minyak Bumi	116
BAB 6 Parameter Biodegradasi Hidrokarbon	119
6.1 Urgensi Biodegradasi Polutan Hidrokarbon	119
6.2 Pengaruh Cemar Minyak Bumi terhadap Ekologi Lingkungan	121
6.3 Parameter Bioremediasi	125
6.3.1 Kerapatan Optik	126
6.3.2 Bau fermentasi	127
6.3.3 Pembentukan Gelembung Udara	128
6.3.4 pH Media Biodegradasi	129
6.3.5 Tingkat Degradasi Hidrokarbon	131
BAB 7 Biodegradasi Komponen Hidrokarbon Alfatik	141
7.1 Komposisi dan Kondisi Media Degradasi Limbah Sludge Minyak Bumi	141
7.2 Mempersiapkan Biodegradator Sludge Menggunakan Mikrosimbion Spons	142
7.2.1 Pengamatan Pembentukan Gas dan Bau Fermentasi pada Media Degradasi	145
7.2.2 Analisis Perubahan pH Media Degradasi Limbah Sludge Minyak Bumi	146
7.2.3 Analisis Kerapatan Optik Suspensi Media Degradasi SMB	148
7.2.4 Tingkat Biodegradasi Terhadap Limbah Sludge Minyak Bumi	154
7.3 Status Komponen Kimia Hidrokarbon Limbah Sludge Minyak Bumi (SMB) sebelum dan setelah Biodegradasi	158

BAB 8 Biodegradasi Komponen Polisklik Aromatik Hidrokarbon	177
8.1 Biodegradasi Polisklik Aromatik	177
8.2 Jenis-jenis Senyawa Polisklik Aromatik Hidrokarbon	179
8.3 Determinasi Polutan Polisklik Aromatik Hidrokarbon dalam Tanah	182
8.4 Aplikasi Mikrosimbiosis Spons dalam Metode Biodegradasi PAH	184
8.5 Aplikasi Mikrosimbiosis Spons Laut Dalam Biodegradasi Sludge Minyak Bumi	188
BAB 9 Aplikasi Mikrosimbiosis Spons Dalam Biodegradasi Pirena	197
9.1 Aplikasi Mikrosimbiosis Dalam Biodegradasi	197
9.2 Aplikasi Mikrosimbiosis Spons Dalam Metode Biodegradasi Pirena	198
9.3 Material dan Metode Kerja Biodegradasi Pirena	200
9.4 Indikator Penilaian Biodegradasi Pirena Oleh Mikrosimbiosis	202
9.4.1 Kerapatan Optik	203
9.4.2 Pembentukan Gelembung Udara, Bau Fermentasi dan Perubahan pH Media Degradasi	205
9.4.3 Waktu Retensi, Kelimpahan dan Pembentukan Puncak Baru	205
9.4.4 Perubahan Konsentrasi Pirena	209
9.5 Komponen Hasil Biodegradasi pada Media Kontak	210
BAB 10 Potensi Alam Sebagai Material Biodegradasi Hidrokarbon	213
10.1 Mikro Organisme Degradator Hidrokarbon	213
10.2 Sumber Material Biodegradator Hidrokarbon	214
10.2.1 Biodegradator Dari Tumbuhan	214
10.2.2 Biodegradator dari fungsi dan Jamur	215
10.2.3 Biodegradator Simbiosis dan Biomassa Spons dan Alga	215
10.2.4 Isolat dari Lindir Sampah dan Tanah Terkontaminasi Hidrokarbon	217
10.2.5 Isolat dari Air Laut dan Sedimen	217
10.2.6 Isolat Dari Penampungan Limbah Hidrokarbon	218
10.3 Potensi Pemanfaatan Mikroorganisme dalam Metode Biosorpsi Logam Berat	219
<i>Daftar Pustaka</i>	225
<i>Lampiran-Lampiran</i>	245
<i>Glosarium</i>	267
<i>Indeks</i>	277
<i>Riwayat Penulis</i>	283

Daftar Tabel

Tabel 3.1	Presentase Input Bahan Buangan Minyak Pertahun	46
Tabel 3.2	Daya Tahan, Struktur, Kelarutan dan Sifat Toksik Beberapa Jenis Polisiklik Aromatik Hidrokarbon (PAH)	53
Tabel 4.1	Hasil Analisis Mikroskopik dengan Pewarnaan Gram Bakteri Simbion Spons <i>Callyspongia sp</i>	76
Tabel 4.2	Tabel {Pengamatan Uji Biokimia Isolat Simbion Spons <i>Callyspongia sp</i>	78
Tabel 4.3	Flow chard preparasi sampel untuk proses biodegradasi	92
Tabel 5.1	Hasil Karakterisasi Sampel Limbah <i>Sludge</i> Minyak Bumi	94
Tabel 5.2	Bobot Menguap Limbah <i>Sludge</i> Minyak Bumi (SMB) berdasarkan Suhu Pemanasan	95
Tabel 5.3	Bakteri pendegradasi hidrokarbon minyak bumi berdasarkan Desai dan Vyas	115
Tabel 7.1	Komposisi dan kondisi media degradasi yang digunakan dalam proses biodegradasi limbah SMB (<i>slugde</i> minyak bumi) oleh mikrosimbion/biomassa spons <i>Callyspongia sp</i>	144
Tabel 7.2	Pembentukan gas dan bau fermentasi media degradasi berdasarkan waktu kontak dan jenis bakteri simbion/biomassa	145
Tabel 7.3	Perubahan pH media degradasi berdasarkan waktu kontak bakteri simbion/biomassa	146
Tabel 9.1	Kerapatan Optik Media Degradasi Berdasarkan waktu Kontak	203
Tabel 9.2	Kinerja isolat Bakteri dalam mendegradasi senyawa pirena diukur berdasarkan waktu kontak dalam hari	209
Tabel 9.3	Komponen Senyawa Organik teridentifikasi pada media hasil biodegradasi tiga jenis isolat bakteriberdasarkan waktu kontak dalam hari	211

Daftar Gambar

Gambar 3.1	Kondisi udara sekitar Pantai Melawai Balikpapan yang tercemar asap pembakaran limbah minyak bumi	57
Gambar 3.2	Pemandangan Pantai Melawai Balikpapan disekitar Kilang Minyak Ulu	58
Gambar 4.1	Hasil analisis morfologi spons spesies <i>Callyspongia</i> sp., a) pertumbuhan membentuk massiva, oscula berserak sepanjang permukaan badan spons; b) hasil pewarnaan dengan EtOH; c) tekstur hasil kompres; d) <i>megascleres axea</i> berupa garis singgung dengan berbagai ukuran.	70
Gambar 4.2	a) isolat 1; b) isolat 2. Kedua isolat tunggal hasil isolasi dan purifikasi, merupakan mikrosimbion spons <i>Callyspongia</i> sp asal Pantai Melawai Balikpapan, Kalimantan Timur	72
Gambar 4.3	Seri pengenceran dalam penentuan jumlah sel suspensi	88
Gambar 5.1	Mekanisme biodegradasi lumpur minyak bumi (sludge) dengan menggunakan biodegradator bakteri. (a) hidrokarbon terlarut; (b) kontak langsung bakteri dengan <i>sludge</i> ; (c) kontak antara butiran <i>sludge</i> yang terdispersi dengan bakteri; dan (d) terjadi peningkatan kelarutan hidrokarbon akibat diproduksinya biosurfaktan sebagai hasil kerja bakteri dalam mendestruksikan <i>sludge</i>	103
Gambar 5.2	Reaksi oksidasi n-alkana oleh bakteri pendegradasi hidrokarbon	106
Gambar 5.3	Reaksi biodegradasi hidrokarbon alifatik	108
Gambar 5.4	Contoh degradasi hidrokarbon aromatik secara enzimatik menggunakan bakteri	108
Gambar 5.5	Biodegradasi Fenantren Menjadi 1-naftalenol oleh Bakteri <i>Pseudomonas</i> sp strain Kalp3b22	109
Gambar 5.6	Kerangka kerja aplikasi biodegradasi hidrokarbon	117
Gambar 6.1	Perubahan yang terjadi pada penyebaran minyak di permukaan tanah	125

Gambar 6.2	Kromatogram hubungan kelimpahan komponen dalam limbah <i>sludge</i> minyak bumi dengan waktu retensi (menit) sebelum kontak dengan suspensi mikrosimbion/ biomassa spons <i>Callyspongis sp.</i> , [tanda x : pristana (C ₁₉) dan Y: phytana (C ₂₀)]	133
Gambar 6.3	Contoh kerja bakteri terhadap konsentrasi TPH berdasarkan waktu kontak (hari)	137
Gambar 7.1	Contoh hubungan antara absorban suspensi media degradasi dengan jenis bakteri/suspensi sebagai biodegradator berdasarkan waktu kontak (hari), perlakuan 1	149
Gambar 7.2	Contoh hubungan antara absorban suspensi media degradasi dengan jenis suspensi berdasarkan waktu kontak (hari), perlakuan 2	150
Gambar 7.3	Contoh hubungan antara absorban suspensi media degradasi dengan jenis suspensi berdasarkan waktu kontak (hari), perlakuan 3	150
Gambar 7.4	Contoh hubungan antara absorban suspensi media degradasi dengan jenis suspensi berdasarkan waktu kontak (hari), perlakuan 4	151
Gambar 7.5	Contoh hubungan antara absorban suspensi media degradasi dengan waktu kontak (hari) menggunakan suspensi BF strain PHCDB20 berdasarkan variasi perlakuan	153
Gambar 7.6	Contoh hubungan antara tingkat degradasi limbah SMB dengan jenis suspensi berdasarkan waktu kontak (hari) pada perlakuan 1	154
Gambar 7.7	Hubungan antara perubahan tingkat degradasi limbah SMB dengan jenis suspensi berdasarkan waktu kontak (hari) pada perlakuan 1	155
Gambar 7.8	Contoh hubungan antara tingkat degradasi limbah SMB dengan jenis suspensi berdasarkan perlakuan pada waktu kontak 35 hari	157
Gambar 7.9	Kromatogram hubungan kelimpahan komponen dalam limbah SMB dengan waktu retensi (menit) sebelum kontak dengan suspensi mikrosimbion dan sel biomassa spons <i>Callyspongis sp.</i> , [tanda x: pristana (C ₁₉) dan Y: phytana (C ₂₀)]	159

Gambar 7.10	Kromatogram hubungan antara kelimpahan dengan waktu retensi (menit) limbah SMB setelah 35 hari kontak dengan suspensi BS strain BAB-1684,, [tanda x : pristana (C ₁₉) dan Y: phytana (C ₂₀)]	160
Gambar 7.11	Contoh kromatogram hubungan antara kelimpahan dengan waktu retensi (menit) limbah SMB setelah 35 hari kontak dengan suspensi BF strain PHCDB20, , [tanda x : pristana (C ₁₉) dan Y: phytana (C ₂₀)]	161
Gambar 7.12	Contoh kromatogram hubungan antara kelimpahan dengan waktu retensi (menit) limbah SMB setelah 35 hari kontak dengan suspensi BSF, [tanda x: pristana (C ₁₉) dan Y: phytana (C ₂₀)]	162
Gambar 7.13	Kromatogram hubungan antara kelimpahan dengan waktu retensi (menit) limbah SMB setelah 35 hari kontak dengan suspensi biomassa spons <i>Calyspongia sp.</i> , [tanda x : pristana (C ₁₉) dan Y: phytana (C ₂₀)]	162
Gambar 7.14	Kromatogram hubungan antara kelimpahan dengan waktu retensi (menit) limbah SMB setelah 35 hari kontak dengan suspensi biakan murni <i>Pseudomonas sp.</i> , [tanda x : pristana (C ₁₉) dan Y: phytana (C ₂₀)]	162
Gambar 7.15	Contoh hubungan antara konsentrasi hidrokarbon alifatik penyusun limbah SMB dengan waktu kontak (hari) hasil degradasi suspensi BS strain BAB-1684 (perlakuan 1)	165
Gambar 7.16	Contoh hubungan antara konsentrasi hidrokarbon alifatik penyusun limbah SMB dengan waktu kontak (hari) hasil degradasi suspensi BF strain PHCDB20 (perlakuan 1)	166
Gambar 7.17	Hubungan antara konsentrasi hidrokarbon alifatik penyusun limbah SMB dengan waktu kontak (hari) hasil degradasi suspensi BSF campuran (perlakuan 1)	166
Gambar 7.18	Hubungan antara konsentrasi hidrokarbon alifatik penyusun limbah SMB dengan waktu kontak (hari) hasil degradasi suspensi Biomassa spons <i>Calyspongia sp</i> (perlakuan 1)	167
Gambar 7.19	Hubungan antara konsentrasi hidrokarbon alifatik penyusun limbah SMB dengan waktu kontak (hari) hasil degradasi suspensi <i>Pseudomonas sp</i> (perlakuan 1)	167

Gambar 7.20	Contoh hubungan konsentrasi hidrokarbon alifatik penyusun limbah SMB dengan perlakuan hasil degradasi suspensi BF strain PHCDB20	169
Gambar 7.21	Penurunan konsentrasi hidrokarbon penyusun limbah SMB berdasarkan perlakuan setelah kontak selama 35 hari	170
Gambar 7.22	Mekanisme reaksi degradasi aerob komponen hidrokarbon alifatik/alkana oleh suatu mikroba menggunakan enzim alkana dengan melibatkan enzim monooksigenase	174
Gambar 7.23	Alur degradasi bakteri simbiosis/sel biomassa spons terhadap komponen hidrokarbon dalam limbah SMB	175
Gambar 8.1	Hubungan antara perubahan konsentrasi hidrokarbon aromatik penyusun limbah SMB dengan waktu kontak (hari) menggunakan degradator suspensi BS strain BAB-1684	189
Gambar 8.2	Hubungan antara penurunan konsentrasi hidrokarbon aromatik penyusun limbah SMB dengan waktu kontak (hari) menggunakan degradator suspensi BF strain PHCDB20	189
Gambar 8.3	Hubungan antara perubahan konsentrasi hidrokarbon aromatik penyusun limbah SMB dengan waktu kontak (hari) menggunakan degradator suspensi BSF campuran	190
Gambar 8.4	Hubungan antara konsentrasi hidrokarbon aromatik penyusun limbah SMB dengan perlakuan hasil degradasi suspensi BF strain PHCDB20	192
Gambar 8.5	Hasil identifikasi komponen aromatik dalam limbah SMB	193
Gambar 8.6	Hubungan total luas puncak komponen penyusun limbah SMB menggunakan degradator suspensi BF strain PHCDB20 setelah kontak 35 hari	194
Gambar 9.1	Kromatogram senyawa organik dalam kultur menggunakan biodegradator <i>Alcaligenes faecalis</i> strain Cu4-1 (AF), waktu kontak, (A) 5 hari, (B) 10 hari, (C) 15 hari	206

- Gambar 9.2 Kromatogram senyawa organik dalam kultur menggunakan biodegradator *Bacillus subtilis* strain BAB-1684 (BS), waktu kontak, (A) 5 hari, (B) 10 hari, (C) 15 hari 207
- Gambar 9.3 Kromatogram senyawa organik dalam kultur menggunakan biodegradator *Bacillus Cereus* strain MER-8 (BC), waktu kontak, (A) 5 hari, (B) 10 hari, (C) 15 hari 208

BAB 1 REMEDIASI DALAM MENATA LINGKUNGAN HIJAU (SEBUAH PENGANTAR)

1.1 Lingkungan Hijau

Deklarasi Tbilisi, 1977, berhasil mendefinisikan lingkungan hidup sebagai proses untuk membangun populasi manusia di dunia yang sadar dan peduli terhadap lingkungan keseluruhan dan segala keadaan yang berkaitan dengannya, termasuk masyarakat yang memiliki pengetahuan, keterampilan, motivasi, sikap dan tingkah laku serta komitmen untuk bekerjasama, baik secara individu maupun kolektif, agar dapat memecah berbagai problematika lingkungan dan dapat mencegah timbulnya masalah baru. Ruang lingkup lingkungan hidup Indonesia meliputi ruang, tempat Negara Kesatuan Republik Indonesia yang berwawasan Nusantara dalam penegakan kedaulatan, hak berdaulat dan yurisdiksinya. Konsep tersebut sesuai dengan pengertian tentang Lingkungan hidup menurut Undang-Undang No. 23 Tahun 1997, mendefinisikan sebagai kesatuan ruang dengan semua benda, daya, keadaan, dan makhluk hidup, termasuk manusia dan perilakunya yang mempengaruhi kelangsungan perikehidupan dan kesejahteraan manusia serta makhluk hidup lain.

Merujuk pada definisi di atas, maka dalam Lingkungan hidup terdapat tatanan unsur hidup yang merupakan kesatuan utuh menyeluruh dan saling mempengaruhi dalam membentuk keseimbangan, stabilitas dan produktivitas satu objek terhadap objek lainnya yang mencakup Indonesia dalam konsep Wawasan Nusantara yang menempati posisi silang antara dua benua dan dua Samudra dengan iklim didominasi oleh tropis dan sebagian subtropis sehingga memunculkan musim dan cuaca yang memberikan kondisi alamiah. Keadaan ini menjadikan Indonesia memiliki keunggulan pada berbagai aspek ketersediaan aneka ragam material dalam lingkungan dengan segala variasinya yang mendukung kehidupan dan kesejahteraan sekaligus memberi efek peran strategis yang tinggi terhadap Indonesia dalam menjalankan kehidupan bernegara sebagai bangsa yang memiliki nilai tawar dalam banyak aspek perikehidupan dan percaturan dunia regional, internasional dan global.

Keadaan menguntungkan ini pula yang secara hukum Indonesia menganut pengembangan dan pengelolaan Negara dan bangsa dengan diselenggarakannya hukum pengelolaan lingkungan hidup berdasarkan Wawasan Nusantara sehingga menjadikan kondisi alam Indonesia yang memenuhi banyak aspek global, maka adopsi Perjanjian Internasional tentang lingkungan hidup yakni, ditandai dengan masuknya Indonesia dalam perjanjian *Biodiversitas*, perubahan iklim, desertifikasi, efek species yang terancam, efek pencemara sampah, hukum laut dan larangan uji coba nuklir, termasuk dalam perjanjian perlindungan lapisan ozon polusi kapal, pengelolaan perkayuan tropis, dataran basah serta perubahan iklim sebagaimana dalam UU 17/2004, Protokol Kyoto dan UU 19/1961, tentang perlindungan Kehidupan Laut.

Keadaan alamiah lingkungan Indonesia yang memberi efek positif dalam penyediaan dan pemenuhan perikehidupan bangsa juga memberi pengaruh pada timbulnya masalah lingkungan hidup di negara kita seperti terjadinya bencana alam tsunami, gempa bumi, gunung berapi, kebakaran hutan, banjir, tanah longsor, kemarau panjang, serta masalah-masalah berkaitan dengan dinamika kehidupan manusia yang menimbulkan efek negatif pada lingkungan, misalnya pencemaran air dan tanah oleh limbah, limbah pariwisata, limbah rumah sakit, limbah pertambangan. Bukan hanya itu, juga dirasakan masalah lain yang sering dialami, seperti penebangan hutan secara ilegal, polusi udara dan air, asap dan kabut dari kebakaran hutan, perambahan suaka margasatwa, perburuan liar dan perdagangan hewan liar yang dilindungi, masalah terumbu karang, sampah khususnya yang masuk kategori bahan berbahaya dan beracun.

1.2 Framing Edukatif Terhadap Lingkungan Hidup

Perhatian terhadap lingkungan hidup banyak difokuskan pada semangat dan motivasi kepedulian serta prinsip dalam pengelolaannya. Fokus pengelolaan lingkungan hidup untuk menumbuhkan semangat 1) kepedulian dan sensitifitas terhadap lingkungan hidup dan tantangannya; 2) Pengetahuan dan pemahaman tentang lingkungan hidup dan tantangannya; 3) Partisipasi untuk menerapkan pengetahuan dan keahlian terkait program pengelolaan lingkungan hidup, 4) Keahlian untuk

mengantisipasi terjadinya permasalahan lingkungan hidup dan 5) perubahan perilaku terhadap lingkungan hidup.

Prinsip-prinsip yang dianut pada pengelolaan lingkungan hidup, yakni: 1) menjadikan suatu proses yang berjalan secara terus menerus dan sepanjang hidup, dimulai pada zaman pra sekolah, dan berlanjut ke tahap pendidikan formal maupun non formal, 2) mengeksaminasi issue lingkungan yang utama dari sudut pandang lokal, nasional, regional dan internasional, sehingga setiap individu diharapkan dapat menerima *insight* mengenai kondisi lingkungan di wilayah geografis, 3) memperkenalkan nilai dan pentingnya kerja sama lokal, nasional dan internasional untuk mencegah dan memecahkan masalah-masalah lingkungan, 4) membuat keputusan dan menerima konsekuensi dari keputusan yang berpihak pada lingkungan hijau berkelanjutan, 5) mengarahkan masyarakat untuk menemukan (*discovery*), gejala-gejala dan penyebab dari masalah lingkungan, 6) memanfaatkan beraneka ragam situasi lingkungan untuk edukasi (*learning environment*) dan berbagai pendekatan dalam pembelajaran mengenal lingkungan dengan penekanan yang kuat pada kegiatan yang sifatnya praktis dan memberikan edukasi dan pengalaman secara langsung (*first-hand experience*), 7) memberi penguatan mengenai kompleksitas masalah lingkungan sehingga diperlukan kemampuan untuk berpikir secara kritis dengan ketrampilan untuk memecahkan masalah, 8) mengkorelasikan kepekaan kepada lingkungan, pengetahuan, ketrampilan untuk memecahkan masalah dan klarifikasi nilai pada setiap tahap umur, tetapi bagi umur muda (tahun-tahun pertama) diberikan tekanan yang khusus terhadap kepekaan lingkungan terhadap lingkungan tempat mereka hidup, 9) mengeksplisitkan dalam mempertimbangkan/memperhitungkan aspek lingkungan dalam rencana pembangunan dan pertumbuhan, 10) mempertimbangkan lingkungan sebagai suatu totalitas alami dan buatan, bersifat teknologi dan sosial (ekonomi, politik, kultural, historis, moral, estetika), 11) melakukan pendekatan yang sifatnya interdisipliner, dengan menarik/mengambil isi atau ciri spesifik dari masing-masing disiplin ilmu sehingga memungkinkan suatu pendekatan yang holistik dan perspektif yang seimbang, 12) memberi tekanan pada situasi lingkungan saat ini dan situasi lingkungan yang potensial, dengan memasukkan pertimbangan perspektif historisnya. Berdasarkan fokus dan

prinsip lingkungan hidup, maka kita semua dituntut adanya keberpihakan individu sebagai bentuk kepedulian terhadap lingkungan, sehingga setiap personal merasa memiliki dan menjadi pelaku dalam pemeliharaan lingkungan dimana individu tersebut berada.

1. 3 Peranan Kimia dalam Perspektif Lingkungan Hijau

Banyak kata yang dapat disandingkan dengan kata kimia untuk membentuk sebuah frase, misalnya kimia hijau, kimia lingkungan, kimia berkelanjutan, kimia hidup dan lain sebagainya, yang pada intinya memiliki makna yang relatif serupa, yakni: bagaimana melakukan rekayasa dalam penataan lingkungan kehidupan sekitar, termasuk produksi makanan dan minuman yang menganjurkan pada proses dan hasil dengan meminimalisasi penggunaan dan pembuatan, penciptaan, refleksi senyawa-senyawa sintetik yang berpotensi resisten terhadap kelangsungan kehidupan makhluk hidup dan keberlanjutan lingkungan yang sehat.

Lingkungan hidup dapat didekati dari banyak disiplin ilmu antara ilmu kimia itu sendiri, sehingga muncul ilmu kimia lingkungan. Istilah ini dapat dipahami dan wajar karena hampir semua komponen, baik komponen biotik maupun komponen abiotik yang menyusun lingkungan hidup terdiri dari unsur dan senyawa kimia dengan komposisinya sehingga membentuk suatu keseimbangan dan dalam keadaan tertentu semua keadaan fisik memerlukan analisis dan penetapan secara proses kimia. Ilmu kimia memegang peranan penting dan sangat menentukan dalam penyelesaian serta memecahkan masalah lingkungan hidup, sedangkan kimia lingkungan adalah studi ilmiah terhadap fenomena semua material kimia dan biokimia yang terjadi di alam. Bidang ilmu kimia dapat didefinisikan yakni: studi terhadap sumber, reaksi, transport/peralihan, efek, pengaruh dan nasib zat kimia di dalam lingkungan udara, tanah, dan air, serta efektivitas dan peran manusia terhadapnya. Kimia lingkungan juga diartikan sebagai ilmu antar disiplin yang memasukkan ilmu kimia atmosfer, akuatik, dan tanah, dan juga sangat bergantung dengan kimia analitik, ilmu lingkungan, dan bidang-bidang ilmu lainnya. Kimia lingkungan pada awalnya dipelajari sebagai proses yang menganalisis bagaimana metode dan prinsip kerja lingkungan yang tak terkontaminasi

zat kimia apapun dan berapa konsentrasi yang ada secara alami dan apakah pengaruhnya sampai pada hal-hal yang mustahil untuk mempelajari secara akurat dan memiliki efek terhadap manusia, lingkungan dengan pelepasan zat kimia tertentu. Peranan ilmu kimia lingkungan diantaranya adalah: 1) mempelajari sifat dan fungsi bahan kimia dalam lingkungan hidup; 2) mempelajari dan menelaah material kimia terhadap suatu komponen lain dan pengaruhnya terhadap lingkungan hidup secara menyeluruh, terutama jika bahan kimia tersebut tersebar dan terkontaminasi dengan lingkungan, sehingga keseimbangan dalam siklus lingkungan terganggu; 3) menentukan jumlah batas penyebaran bahan kimia tertentu dalam lingkungan agar tidak memberikan gangguan terhadap keseimbangan, kelestarian dan fungsi-fungsinya terhadap lingkungan dan memberi manfaat untuk kesejahteraan manusia; 4) merekomendasikan semua hasil penelitian dan percobaan yang berkaitan dengan zat/ bahan kimia dan pengaruhnya terhadap lingkungan, kepada pengelola lingkungan hidup atau kepada masyarakat pada umumnya.

Kimia lingkungan juga didefinisikan sebagai salah satu studi ilmiah terhadap fenomena kimia dan biokimia yang terjadi di alam. Bidang ilmu ini dapat didefinisikan sebagai studi terhadap sumber, reaksi, transpor, efek, dan nasib zat kimia di lingkungan yang berwujud udara, tanah, dan air; serta efeknya terhadap aktivitas manusia dan lingkungan. Istilah kimia lingkungan adalah bagian dari ilmu kimia yang membahas persenyawaan material dalam proses kimiawi di alam dan pengaruhnya terhadap lingkungan hidup. Kimia hijau adalah suatu filosofi yang senantiasa mendorong untuk mencari cara, penerapan teknologi atau metode tertentu dalam pemenuhan kebutuhan manusia atau kemudahan-kemudahan dalam kelangsungan kehidupan dengan menerapkan metode dalam mengurangi dan mencegah terjadinya potensi pencemaran atau dampak lingkungan pada lingkungan sumber atau host maupun pada area sekitarnya, baik yang sifatnya jangka pendek, menengah dan jangka panjang. Memperkuat upaya pencegahan, pencemaran material kimia, maka dikeluarkan Undang-Undang Pencegahan Pencemaran (*Pollution Prevention Act*) pada Tahun 1990, yang dilakukan di Amerika Serikat. Tujuan atas pemberlakuan Undang-undang ini adalah membantu menciptakan model, teknologi dan inovasi serta kreativitas yang berkaitan dengan

timbulnya masalah pencemaran, agar potensi pencemaran dapat tercegah sebelum terjadi masalah yang sifatnya akut maupun kronis. Undang-undang ini menjadi cikal-bakal munculnya peristilahan baru dalam kimia modern yakni filsafat kimia. Filsafat kimia memberi ruang untuk meleburnya bidang kimia lainnya, seperti kimia organik, kimia anorganik, biokimia, kimia analitik dan bahkan kimia fisis dalam suatu ulasan dan pembentukan opini untuk melanjutkan kehidupan manusia yang dinamis pada suatu ruang yang luas dengan lingkungan yang tetap mempertahankan dirinya sebagai area yang ramah bagi seluruh makhluk, meskipun penerapan kimiawi terhadap material kimia semakin berkembang dalam industri, karena kimia hijau dalam perspektif filsafat kimia adalah dapat di terapkan pada semua cabang kimia, termasuk dalam kimia klinik yang harusnya mengadopsi sistensis-sintesis kimia yang konsisten pada tujuan dari kimia hijau itu sendiri yang pada akhirnya mendukung terwujudnya kimia lingkungan yang fokus pada gejala-gejala dan fenomena kimia ramah lingkungan.

Kimia lingkungan hendaknya menjadi filsafat kimia agar mengakar dan membentuk karakter kepada setiap insan akan arti pentingnya kimia lingkungan dalam menjaga keseimbangan alam dan benar-benar dapat melebur banyak cabang kimia dan bahkan memicu lahirnya pemahaman dan istilah baru dalam kimia itu sendiri, seperti kimia forensik, rekayasa kimia, kimia terapan, kimia klinik yang banyak dipakai dalam ilmu kedokteran, demikian pula dalam upaya penerapan teknologi dengan memanfaatkan bahan alam untuk mempertahankan daya dukung lingkungan yang tetap ramah bagi kehidupan makhluk seperti teknik dan metode remediasi, degradasi, destruksi, reduksi, absorpsi, adsorpsi yang semuanya merupakan bagian dari perkembangan ilmu pengetahuan kimia lingkungan dan inovasi dalam bidang kimia. Perkembangan mutakhir tentang kimia berkelanjutan adalah peristilahan-peristilahan, seperti penerapan teknologi nanopartikel pada berbagai aspek semakin hidup dalam kehidupan kita. Hal ini semakin menguatkan dan mengukuhkan bagaimana pengetahuan kimia berkembang sedemikian masif, sehingga dapat dikatakan bahwa filsafat kimia telah memberi ruang yang luas untuk perkembangan teknologi, bahkan dapat meleburkan bidang pengetahuan lainnya untuk masuk di dalamnya. Apa yang terjadi dalam bidang kimia

bahkan telah memaksa patron riset disetiap bidang tertentu untuk berkolaborasi satu terhadap yang lain. Fenomena perkembangan filsafat kimia memberi keyakinan kepada kita semua bahwa ilmu kimia dan perkembangan ilmu pengetahuan yang melahirkan filsafat ilmu dan secara masif mengantarkan egoisme keilmuan kita pada titik fokus penelitian pada bidang masing-masing dan bercerai-berai, terpisah satu dengan yang lain membentuk benang kusut tak berpangkal dan nyaris tak berujung, dengan jangkauan yang masih bermain pada area permukaan saja, kemudian terajut secara alamiah dan telah membentuk siklus sedemikian rupa yang dapat diramalkan pada 2 sampai 3 dekade kedepan akan menyatu, manum pada kajian yang lebih dalam menuju pada bidang inti ilmu pengetahuan, karena filsafat ilmu pengetahuan telah memberi sumbangan besar pada peradaban kehidupan manusia yang dimotori oleh pendekatan dan metode kimia sebagai geliat memperbaiki dan memudahkan dinamika kehidupan makhluk melalui jalan hidup kimia hijau.

1.4 Berjuang Selamatkan Lingkungan

Banyak teknologi yang dapat dilakukan untuk penyelamatan lingkungan. Melakukan perbaikan terhadap lingkungan yang umum dilakukan dewasa ini adalah dengan model pencegahan, penanggulangan atau rehabilitasi serta mempertahankan lingkungan dalam keseimbangan daya dukung optimal pasca perbaikan. Salah satu teknik dalam mempertahankan daya dukung lingkungan adalah remediasi.

Remediasi lingkungan adalah metode pendekatan atau proses yang dilakukan dalam rangka perbaikan lingkungan dengan cara mengurangi ataupun menghilangkan pencemaran di lingkungan, yang sering dilakukan dengan memanfaatkan material organik atau mungkin dengan menggunakan mikroorganisme spesifik. Bioremediasi merupakan metode perbaikan lingkungan dengan menggunakan jenis mikroorganisme tertentu, bertujuan untuk mengurangi polutan dan konsentrasinya yang ada dalam lingkungan. Mekanisme kerja bioremediasi adalah mikroorganisme memproduksi enzim tertentu yang spesifik sebagai respon atas ancaman predator dari polutan, dimana enzim yang diproduksi tersebut berfungsi untuk memodifikasi polutan atau kontaminan beracun dengan teknik,

mengubah komposisi, struktur, daya toksit dan konsentrasi kimia polutan. Metode ini dikenal dengan sebutan biotransformasi, dimana pada metode ini, proses yang terjadi berujung pada biodegradasi terjadi saat polutan beracun terdegradasi, sehingga komposisi dan struktur kimia menjadi tidak kompleks, dan akhirnya menjadi metabolit sederhana yang tidak berbahaya dan juga tidak beracun. Eksplorasi potensi biodiversitas (keanekaragaman) mikroorganisme, meliputi: 1) aplikasi mikroorganisme untuk peningkatan kualitas lingkungan; 2) pencarian/penemuan mikroorganisme yang mempunyai potensi metabolik untuk aplikasi industri; dan 3) Rekayasa genetika mikroorganisme untuk mendapatkan mikroorganisme jenis baru yang dapat mendegradasi limbah tertentu.

Vegetasi merupakan material/bagian hidup juga memiliki potensi sebagai remediator lingkungan yang tersusun dari tetumbuhan yang menempati suatu ekosistem dalam area yang lebih sempit. Vegetasi dibedakan berdasarkan karakter floristik tertentu, misalnya asosiasi spesies-spesies yang dominan, atau karakter lingkungan seperti jenis tanah dan iklim, sedangkan istilah revegetasi lingkungan adalah penutupan lahan menggunakan tumbuhan atau bahan organik/pupuk hijau untuk tujuan mengurangi dampak dari pengrusakan akibat adanya ancaman kerusakan lahan oleh peristiwa alam atau aktivitas manusia lainnya untuk tujuan stabilitas.

Metode fitoremediasi adalah salah satu metode pemulihan, perbaikan atau pengembalian fungsi dan keseimbangan lingkungan. Metode ini menggambarkan metode dan mengikuti pola yang dilakukan dalam bidang medis yakni: pengobatan masalah lingkungan (bioremediasi) melalui penggunaan material tertentu dari tanaman untuk mengurangi kontaminan atau polutan lingkungan tanpa perlu menggali bahan kontaminan dan membuangnya di tempat lain. Fitoremediasi adalah penarikan konsentrasi polutan dalam tanah yang terkontaminasi dalam bentuk termitigasi berwujud cair/air, atau gas/udara, dengan menggunakan tanaman yang mampu menurunkan atau menghilangkan polutan dalam lingkungan, seperti logam berat, residu pestisida, bahan pelarut dan terlarut, bahan peledak, minyak mentah dan turunannya dalam hal ini polisiklik aromatik hidrokarbon, limbah detergen mengandung phosphor/poshpat serta kontaminan lainnya dari berbagai media

pencemar. Salah satu contoh penerapan fitoremediasi adalah dilakukan dengan metode *wet land* atau *waste water garden*. Metode ini dilakukan dengan metode limbah dialirkan ke kolam penampungan yang ditanami tumbuhan air yang bersifat hiperakumulator (contoh: eceng gondok, kayu apu). Fitoremediasi merupakan salah satu teknologi yang secara biologi yang memanfaatkan tumbuhan atau mikroorganisme yang dapat berasosiasi untuk mengurangi polutan lingkungan baik pada air, tanah dan udara yang diakibatkan oleh logam atau bahan organik. Beberapa metode fitoremediasi yang biasa dilakukan dewasa ini adalah:

- a. Fitoekstraksi adalah proses yang terjadi dimana tumbuhan menarik zat kontaminan dari media sehingga berakumulasi disekitar akar tumbuhan. Proses ini disebut juga hyperacumulasi, yaitu akar tanaman menyerap limbah logam dari tanah dan mentranslokasinya ke bagian tanaman yang berada di atas tanah.
- b. Fitofiltrasi merupakan proses adsorpsi atau pengedapan zat kontaminan oleh akar untuk menempel pada akar. *Rhizofiltration* mirip dengan *Phytoextraction* tapi digunakan untuk membersihkan air tanah terkontaminasi daripada tanah tercemar. Kontaminan yang baik teradsorpsi ke permukaan akar atau diserap oleh akar tanaman. Tanaman yang digunakan untuk *rhizofiltrasi* tidak ditanam langsung di area terkontaminasi namun tanaman tersebut harus mampu beradaptasi dengan polutan.
- c. Fitostabilisasi adalah salah satu metode fitoremediasi dengan medel penempelan zat-zat kontaminan tertentu pada akar yang tidak mungkin terserap kedalam batang tumbuhan. Zat-zat tersebut menempel kompak (stabil) pada akar sehingga tidak akan terbawa oleh aliran air dalam media. Metode ini dilakukan untuk mencegah kontaminasi dari penyebaran dan bergerak di seluruh tanah dan air tanah, zat kontaminan diserap oleh akar dan akumulasi, diabsorpsi akar, terjadi pada risofer.
- d. Fitodegradasi atau rizodegradasi disebut juga *enhanced rhizosphere biodegradation or plant-assisted bioremediation degradation*, yaitu metode penguraian zat-zat kontaminan oleh aktivitas mikroba yang berada disekitar akar tumbuhan. Misalnya ragi, fungi dan bakteri.
- e. Fitotransformasi yaitu proses yang dilakukan tumbuhan untuk menguraikan zat kontaminan yang mempunyai rantai molekul yang

kompleks menjadi bahan yang tidak berbahaya dengan dengan susunan molekul yang lebih sederhana yang dapat berguna bagi pertumbuhan tumbuhan itu sendiri. Proses ini dapat berlangsung pada daun, batang, akar atau diluar sekitar akar dengan bantuan enzim yang dikeluarkan oleh tumbuhan itu sendiri.

- f. Fitovolatilisasi yaitu proses penarikan dan transpirasi zat kontaminan oleh tumbuhan dalam bentuk terlarut dan terurai sebagai bahan yang tidak berbahaya lagi untuk selanjutnya di uapkan ke admosfir. Beberapa tumbuhan dapat menguapkan air 200 sampai dengan 1000 liter perhari untuk setiap batang.

Degradasi dalam aspek kimia adalah oksidasi senyawa organik. Proses oksidasi yang paling penting adalah respirasi yang memungkinkan pelepasan karbon dioksida dan penutupan siklus biogeokimia karbon. Istilah degradasi juga banyak digunakan dalam pemulihan lahan. Degradasi adalah metode perbaikan lingkungan terkontaminasi dengan menggunakan bahan anorganik dan organik untuk memulihkan lahan dengan merusak struktur kimia polutan atau mereduksi daya toksisitas bahan polutan, juga bisa dengan mendestruksi/merusak struktur kontaminan dalam lingkungan. Jika proses pemulihan lingkungan tersebut menggunakan bahan organik di kenal dengan istilah biodegradasi, yaitu proses dimana bahan organik yang dirusak oleh enzim yang dihasilkan oleh organisme hidup. Bioremediasi adalah istilah yang digunakan dalam ekologi untuk menggambarkan proses biokimia yang cenderung menghasilkan zat organik yang dihasilkan secara alami. Proses biodegradasi dalam keseimbangan alam yang dilakukan oleh dekomposer, mikroorganisme, misalnya jamur, bakteri, protozoa, yang tumbuh pada bahan organik mati, atau produk limbah dari ekosistem.

Absorpsi adalah fenomena fisika atau kimia atau suatu proses di mana atom, molekul atau ion memasuki ruang antar fase bahan cair atau padat. Definisi lain menyebutkan absorpsi adalah proses suatu bahan (absorbat) diretensi oleh bahan lain (absorben), ini dapat berupa larutan fisik gas, cairan, atau padatan dalam cairan, pengikatan molekul suatu gas, uap, cairan, atau pelarutan bahan pada permukaan padatan melalui gaya fisika, metode absorpsi banyak digunakan dalam teknik pengolahan limbah cair yang didalamnya terdekomposisi kontaminan berupa logam

berat. Absorpsi kontaminan logam berat dalam limbah cair adalah peristiwa terjerapnya logam berat oleh ruang berpori (absorben) yang cenderung lebih parsial negatif akibat perbedaan afinitas terhadap adsorbat yang memiliki afinitas parsial positif. Metode absorpsi limbah cair terkontaminasi logam berat dengan menggunakan mikroorganisme dapat dilakukan dan merupakan teknik remediasi lingkungan tercemar yang ramah lingkungan. Metode ini disebut biosorpsi merupakan teknologi pengolahan limbah mengandung kontaminan seperti logam berat yang terjadi dengan menyisihkan/menghilangkan logam berat yang bersifat racun. Metode biosorpsi dapat dipertimbangkan sebagai suatu teknologi alternatif yang ramah lingkungan untuk mengolah limbah cair industri yang secara ekonomi layak digunakan. Proses biosorpsi dapat terjadi karena adanya material biologis yang disebut biosorben dan adanya larutan yang mengandung logam berat dengan afinitas yang tinggi sehingga mudah terikat dengan biosorben. Absorpsi dapat pula didefinisikan suatu peristiwa penyerapan atau peresapan zat cair ke zat cair lain atau zat padat, hingga keduanya menyatu.

1.5 Mengelola Lingkungan, Tanggung jawab Siapa?

Mengelola lingkungan hidup hunian kita tidak mudah untuk dilakukan karena banyak faktor yang menentukan dan saling kait mengait satu dengan yang lainnya. Alam yang dihuni oleh makhluk hidup termasuk manusia adalah ciptaan Allah SWT, yang sesungguhnya juga Allah telah menyiapkan cara merawat alam hunian kita secara alamiah dalam metode remediasi alami lingkungan. Makhluk hidup (manusia) juga diciptakan oleh Allah, yang pada dirinya, sesungguhnya telah dibekali oleh Allah akal dimaksudkan agar manusia menggunakannya agar dapat mempertahankan hidupnya termasuk dalam mengatasi lingkungan huniannya, agar tetap memiliki daya dukung untuk menjamin semua yang ada dalam alam tersebut tetap berjalan dalam keseimbangan, meskipun didalamnya terdapat banyak dinamika yang terjadi, namun sebenarnya hanyalah proses dan mekanisme untuk mencapai keseimbangan baru. Dengan kata lain bahwa dinamika apapun yang terjadi di dalam alam baik karena perlakuan manusia maupun karena kejadian atau fenomena alamiah alam, sesungguhnya adalah bagian dalam mengatasi permasalahan yang

ada sehingga alam/lingkungan seharusnya dapat menjaga keseimbangan alamnya dengan berbagai proses yang terjadi.

Dewasa ini secara massif, daya dukung alam dalam menjaga keseimbangannya mengalami pergeseran akibat intervensi manusia dalam dinamika hidupnya semata untuk tujuan mempertahankan hidup, namun kerap kali melenceng dari hal yang seharusnya dilakukan karena faktor keserakahan dan nafsu yang berlebihan pada pandangan masa depan yang dilingkupi rasa kuatir dan ketakutan, sehingga pemikiran rasional manusia menjelma menjadi pemikiran irasional yang ternyata merupakan bagian dari upaya mempertahankan kehidupan masa depannya. Sangat banyak temuan teknologi saat ini yang terpampang didepan kita, yang sesungguhnya merupakan pemicu dari kerusakan alam/lingkungan yang terjadi saat ini. Berbagai produk yang berbahan dasar plastik, penerapan teknologi yang menyebabkan terjadinya perubahan iklim dan pemanasan global, eksplorasi bahan alam yang menghasilkan produk ikutan lainnya mengakibatkan terjadinya pencemaran lingkungan akibat kontaminasi material sisa, seperti PAH, logam berat, radionuklida dan radiasi.

Akibat masalah lingkungan menyebabkan terjadinya perubahan pola pikir manusia yang justru menjadi beban moral manusia untuk tetap mempertahankan daya dukung dan keseimbangan alam ini secara alamiah, namun upaya ini terlanjur sulit untuk dilakukan karena setiap kelompok dan komunitas manusia yang hidup pada berbagai suku dan bangsa memiliki dinamika hidup dan cara yang berbeda dalam pandangannya terhadap lingkungan, sehingga pola pengelolaan dan penanganan lingkungan akan dilakukan dengan caranya sendiri dan berbeda orientasi dengan kelompok atau komunitas lainnya. Beban perbaikan lingkungan oleh manusia sepatutnya menjadi prioritas untuk dilahirkannya regulasi yang berpihak pada perbaikan lingkungan yang menjadi tanggungjawab manusia. Hal demikian karena hanya manusia yang dibekali akal dan pikiran yang diharapkan untuk mengubah dan memenuhi kebutuhan hidupnya.

Perbedaan manusia dengan makhluk lain adalah bahwa manusia dibekali akal dan pikiran yang diharapkan dapat memberi manfaat di muka bumi untuk menjadi pioner perubahan dan perbaikan terhadap lingkungan yang kita huni saat ini. Pikiran manusia dapat melahirkan teknologi

dengan memanfaatkan material yang sudah disiapkan oleh alam sebagai bahan bawaan yang dapat digunakan untuk menjaga keseimbangan alam dan lingkungan. Salah satu metode yang dapat diterapkan dalam melakukan perbaikan lingkungan adalah remediasi dan bioremediasi. Teknologi yang dihasilkan untuk tujuan *recovery* lingkungan dengan memanfaatkan bahan organik dan material mikroorganisme, semuanya merupakan sediaan bawaan alam untuk tujuan *recovery* terhadap lingkungan. Remediasi dengan melibatkan potensi alam merupakan bentuk tanggungjawab alam dalam menjaga dan memelihara keseimbangan lingkungan agar tetap memberi daya dukung semaksimal mungkin untuk kehidupan makhluk hidup dari generasi ke generasi.

1.6 Pemulihan (*recovery*) Lingkungan

Banyak pemikiran manusia yang mengelitik, aneh, namun sangat rasional dalam kaitannya dengan dinamika kehidupan dewasa ini yang dikaitkan dengan alam dan sumber daya didalamnya seperti, udara, tanah dan air. Pertanyaan yang sering muncul, bukan hanya dalam hati adalah, “Apa yang kita/kalian pikirkan jika 10 tahun, 50 tahun, atau 100 tahun lagi, air yang menjadi salah satu sumber kehidupan manusia menjadi sumber daya yang langka, bahkan di beberapa tempat mengalami kekeringan? Jika pun air tersebut ada, mungkin sudah terkontaminasi dan bahkan dapat menjadi sumber konflik karena antar manusia saling berebut untuk mendapatkannya. Mengapa demikian? Karena manusia tak peduli lagi dengan air tersebut bersih atau tidak akibat kebutuhan untuk mempertahankan hidup. Sebuah pemikiran sekaligus rasa khawatir seseorang yang membaca alam mini dengan segala bentuk dinamika yang terjadi di dalamnya. Pertanyaan ini dibuat dalam bentuk surat “Masa Depan”, yang ditulis seolah-olah tahun 2070 dimana peradaban manusia untuk saat itu belum dijalani. Isi narasi tersebut menceritakan tentang keadaan bumi di tahun 2070 yang amat sangat mengkhawatirkan. Diceritakan dalam artikel sederhana tersebut bahwa air sangat langka sehingga menimbulkan dehidrasi, orang buang hajat langsung ke septik tank; usia harapan hidup seseorang pun tidak lebih dari 50 tahun; oksigen terkontaminasi karena kurangnya pepohonan dan vegetasi serta ruang terbuka, masyarakat harus membayar atas udara yang dihirupnya, kalau tidak dia akan dikeluarkan

dari zona berventilasi, bahkan zona hijau yang masih terdapat cukup air dan pepohonan dijaga sangat ketat oleh para tentara.

Mencermati isi artikel ini, imajiner kita mengisyaratkan kepada kita dalam berkesimpulan bahwa air dan udara yang bersih sangatlah berharga melebihi emas atau berlian sekalipun. Hal tersebut diakibatkan oleh ulah nenek moyang mereka sebelumnya yang tidak memelihara lingkungannya secara berkelanjutan di zaman dulu hingga pada zaman dimana kita hidup, sehingga diprediksi bahwa pada tahun tersebut akan terjadi keadaan seperti isi artikel di atas. Nenek moyang dulu dan hingga kita saat ini telah melakukan eksploitasi besar-besaran akan Sumber Daya Alam yang ada di bumi tanpa memikirkan akibat yang akan terjadi dalam jangka waktu panjang, semua ini terjadi karena naluri hidupnya kita sangat kuat, seolah kita tidak akan menjalani suatu kehidupan lain yang namanya mati. Sehingga dengan naluri ini kita menggunakan sumber energi bahan bakar yang berpotensi bisa merusak lingkungan secara signifikan, dan baru terasa di masa yang akan datang. Kita tidak peduli akan himbauan segelintir orang untuk menjaga alam secara berkelanjutan. Mereka hanya memikirkan nilai ekonomi saja tanpa memikirkan kelangsungan lingkungan (ekologi) dan kehidupan sosial di masa yang akan datang. Kita yang hidup di zaman ini tentu telah berbuat kesalahan berkelanjutan, dan sangat yakin secara spontan kita akan menjawab tidak untuk kehidupan seperti isi artikel tersebut kita limpahkan kepada anak, cucu, dan cicit, bahkan teman-teman semua merasakan hal seperti kejadian imajiner yang diceritakan di tahun 2070 tersebut? Untuk itu, apakah yang akan kita perbuat untuk masa depan lingkungan dan bumi kita kaitannya dengan masalah air.

Air merupakan salah satu kebutuhan utama bagi semua makhluk hidup. Agar dapat digunakan untuk konsumsi sehari-hari, kualitas air harus memenuhi standar baku mutu lingkungan. Kualitas air bersih dapat ditinjau dari segi fisik, kimia, mikrobiologi dan radioaktif. Namun kualitas air yang baik ini tidak selamanya tersedia di alam sehingga diperlukan upaya perbaikan, baik itu secara sederhana maupun modern. Jika air yang digunakan belum memenuhi standar kualitas air bersih dapat menimbulkan masalah lain yang dapat menimbulkan kerugian bagi penggunaanya.

Akhir-akhir ini sering timbul masalah yang sangat krusial yaitu masyarakat sulit untuk mendapatkan air bersih. Banyak sumber air yang biasa dipakai tidak dapat dimanfaatkan lagi. Penyebab sulitnya mendapat air bersih adalah adanya pencemaran air yang disebabkan oleh limbah rumah tangga, limbah pertanian, dan limbah industri. Contoh dalam bidang industri adalah penggunaan logam berat dan senyawa organik secara intensif di dalam industri yang telah menimbulkan kontaminasi di tanah dan air. Di samping itu, adanya pembangunan dan penjarahan hutan menjadi penyebab berkurangnya kualitas mata air dari pegunungan karena banyak bercampur dengan lumpur yang terkikis terbawa aliran sungai. Pencemaran air dapat menjadi masalah yang besar apabila tidak ditangani secara serius, namun sebaliknya bila limbah ini dikelola dengan baik dapat memberikan nilai tambah. Salah satu upaya untuk mengurangi limbah adalah mengintegrasikan usaha tersebut dengan beberapa usaha lainnya,

Ada beragam cara untuk memecahkan masalah tersebut, salah satunya dengan aplikasi teknologi yang tepat guna untuk menghasilkan air dengan kualitas baik, menguntungkan dan mudah digunakan. Mengatasi pencemaran lingkungan, terutama pencemaran air, telah dikembangkan dan diterapkan dan digunakan inovasi teknologi pemulihan air limbah dengan metode-metode berbasis fisika dan kimia serta biologi. Tindakan pemulihan air limbah (*recovery*) perlu dilakukan agar air yang tercemar dapat digunakan kembali untuk berbagai kegiatan secara aman. Pengendalian dan pemulihan pencemaran dengan menitikberatkan perhatian upaya *recovery* (pemulihan air yang tercemar), yang berujung pada terjadinya keseimbangan alam dan meningkatnya daya dukung alam dan lingkungan terhadap kehidupan kita.

BAB 2 PENCEMARAN LINGKUNGAN

2.1 Pencemaran

Pencemaran adalah memasukkan atau dimasukkannya material, objek, makhluk hidup, zat, energi dan/atau komponen lain ke dalam air, tanah atau udara dilakukan dengan sengaja atau tidak sengaja. Pencemaran juga bisa berarti berubahnya tatanan (komposisi) air, tanah atau udara oleh kegiatan manusia dan proses alam untuk mencapai keseimbangan baru melalui proses alamiah dimana hasil dari perubahan tersebut berdampak pada penurunan kualitas lingkungan, sehingga kualitas air, tanah atau udara menjadi kurang atau tidak dapat berfungsi lagi sesuai dengan peruntukannya. Mencegah terjadinya pencemaran terhadap lingkungan oleh berbagai aktivitas industri, aktivitas manusia dan aktivitas alam, sehingga diperlukan pengendalian terhadap pencemaran lingkungan dengan menetapkan baku mutu lingkungan.

Kita semua ketahui bahwa keberadaan bahan kimia yang tersebar dalam lingkungan fisik ini ada yang bermanfaat dan sangat diperlukan dalam jumlah sebanyak mungkin, ada juga yang berguna dalam kadar tertentu dan sebagian yang lain keberadaannya justru bersifat racun dan berbahaya bagi kehidupan manusia, hewan maupun tumbuh-tumbuhan. Bahan-bahan kimia yang kehadirannya dalam lingkungan hidup dapat menyebabkan terganggunya keseimbangan hidup manusia, hewan maupun tumbuh-tumbuhan disebut bahan pencemar. Berdasarkan Undang-undang Pokok Pengelolaan Lingkungan Hidup No. 4 Tahun 1982, polusi atau pencemaran lingkungan adalah masuknya atau dimasukkannya makhluk hidup, zat energi, dan atau komponen lain ke dalam lingkungan, atau berubahnya tatanan lingkungan oleh kegiatan manusia atau oleh proses alam sehingga kualitas lingkungan turun sampai ke tingkat tertentu yang menyebabkan daya dukung lingkungan menjadi berkurang/turun atau tidak dapat berfungsi lagi sesuai dengan peruntukannya.

Pencemaran terhadap lingkungan dapat terjadi di mana saja menempuh mekanisme tertentu dengan laju bervariasi bisa cepat, sedang

atau sangat cepat dan memberi dampak membebani objek terpapar dan umumnya terkomposisi akumulatif sehingga beban ini semakin berat seiring dengan pertambahan waktu. Ada beberapa bagian yang menjadi sumber utama terjadinya pencemaran, antara lain: 1) proses alam, antara lain pembusukan secara biologis, aktivitas gunung berapi, terbakarnya semak-semak, terbakarnya hutan dan halilintar; 2) pembuatan/aktivitas manusia, seperti: hasil pembakaran bahan bakar yang terjadi pada industri dan kendaraan bermotor, pengolahan dan penyulingan bahan tambang, mineral dan batubara, 3) proses-proses dalam pabrik, sisa buangan dari aktivitas manusia. Pencemaran terbagi empat macam, yaitu pencemaran tanah, pencemaran air, pencemaran udara dan pencemaran bunyi/suara.

2.1.1 Pencemaran air

Pencemaran air didefinisikan terjadinya perubahan keadaan di suatu tempat penampungan air seperti waduk, danau, sungai, lautan dan air tanah akibat aktivitas manusia. Danau, sungai, lautan dan air tanah serta area genangan air lainnya adalah bagian penting dalam siklus kehidupan manusia dan merupakan salah satu bagian dari siklus hidrologi yang mengalirkan air, termasuk mengalirkan sedimen dan polutan. Pemanfaatan terbesar danau, sungai, lautan dan air tanah adalah untuk irigasi pertanian, bahan baku air minum, sebagai saluran pembuangan air hujan dan air limbah, bahkan berpotensi sebagai objek wisata. Aktivitas alam seperti gunung berapi, badai, gempa bumi dan dinamika alam lainnya, meskipun mengakibatkan perubahan yang besar terhadap kualitas air, namun tidak dianggap sebagai pencemaran.

Pencemaran air merupakan masalah global dan utama yang membutuhkan evaluasi dan penyesuaian kebijakan sumber daya air sesuai kemajuan dan jaman pada semua tingkat (dari tingkat internasional hingga sumber air pribadi dan sumur). Polusi air merupakan masalah utama dan terkemuka di dunia dan sangat potensial menyebabkan kematian dan penyakit terhadap makhluk hidup (manusia, hewan dan tumbuhan), bisa karena terkontaminasi langsung atau tidak langsung melalui media seperti udara, air dan tanah. Masalah pencemaran air kebanyakan terjadi pada beberapa negara berkembang, bahkan beberapa negara maju masih sering ditemukan khususnya pada daerah tertentu yang manajemen pengelolaan sumber air baku yang dimilikinya belum dilakukan secara baik, sehingga

polusi air merupakan masalah akut di berbagai negara tepatnya pada komunitas masyarakat yang belum maju. Dewasa ini, negara-negara industri/maju juga masih berjuang dengan masalah polusi terutama pencemaran air.

Air biasanya disebut tercemar ketika terganggu oleh kontaminan antropogenik atau ketika tidak bisa mendukung kehidupan manusia, seperti air minum, dan/atau mengalami pergeseran nilai kualitas ditandai dalam kemampuannya untuk mendukung komunitas penyusun biotik, seperti ikan dan biota air lainnya. Fenomena alam seperti melutusnya gunung berapi, ledakan alga, kebinasaan ikan, badai, dan gempa bumi juga menyebabkan perubahan besar dalam kualitas air dan status ekologi air. Pencemaran air dapat disebabkan oleh berbagai hal dan memiliki karakteristik yang berbeda-beda, misalnya: 1) meningkatnya kandungan nutrisi dapat mengarah pada eutrofikasi, 2) industri membuang berbagai macam polutan ke dalam badan air seperti logam berat, toksin organik, minyak, nutrisi dan padatan. Air limbah tersebut memiliki efek termal, terutama yang dikeluarkan oleh pembangkit listrik, limbah cair pengolahan nikel dapat mengurangi oksigen dalam air, 3) limbah rumah tangga dan limbah organik lainnya seperti air comberan menyebabkan peningkatan kebutuhan oksigen pada badan air penerima, mengarah pada berkurangnya oksigen yang dapat berdampak parah terhadap seluruh ekosistem, dan 4) masalah pencemaran terjadi karena penggunaan bahan peledak, sering terjadi di laut, danau oleh aktivitas penangkapan ikan. Polusi terhadap perairan dan sumber-sumber air harus dapat dilakukan mengingat masalah yang ditimbulkan dapat berkibat pada terganggunya kegiatan pertanian, penangkapan, roda ekonomi dan kehidupan sosial serta dapat menimbulkan masalah pada keseimbangan alam, sehingga potensi terjadinya kerusakan lingkungan dapat terjadi misalnya timbulnya bencana banjir, erosi, kekurangan sumber air bersih, potensi terjadinya penyakit mewabah, tanah longsor, merusak ekosistem sungai dan danau.

2.1.2 Pencemaran Tanah

Pencemaran tanah adalah kondisi dimana material kimia buatan manusia masuk ke dalam badan tanah dan menyebabkan perubahan komposisi lingkungan tanah alami. Pencemaran tanah dapat terjadi karena

adanya tumpahan limbah cair atau baha kimia industri atau fasilitas komersil, penggunaan pestisida, masuknya air permukaan dalam tanah subpermukaan, kecelakaan transfortasi pengangkut bahan kimia atau karena adanya pembuangan limbah secara lamgsung dan tidak memenuhi syarat mutu limbah (*illegal dumping*).

Jika satu jenis zat berbahaya dan beracun mencemari permukaan tanah baik disengaja maupun tidak disengaja, maka zat tersebut sebagian akan menguap, tersapu air hujan dan atau sebagian masuk ke dalam tanah. Zak kimia yang masuk ke dalam tanah, kemudian terendap. Zat terendap ini menimbulkan dampak langsung maupun tidak langsung kepada manusia ketika bersentuhan atau dampak lainnya adalah dapat mencemari air tanah dan udara di atasnya. Ilustrasi pencemaran tanah oleh bahan kimia misalnya jika terjadi paparan kronis (terus-menerus) atau paparan akut (volume banyak dan tiba-tiba) terhadap tanah oleh benzene pada konsentrasi tertentu dapat menimbulkan masalah kesehatan (penyakit leukemia) terhadap manusia apabila terpapar. Dampak atas pencemaran tanah terhadap kesehatan manusia tergantung pada jenis polutan yang masuk ke dalam tanah yang pada akhirnya paparan ini kontak dengan tubuh dalam waktu tertentu. Jenis polutan kimia yang mungkin mencemari tanah seperti kromium dan klorid sebagai bahan pestisidan dan herbisida, benzena dari aktivitas industri, merupakan bahan pemicu kanker karena merupakan zat karsinogenik terhadap semua populasi.

Timbal (Pb), Merkuri (Hg) dan Arsen (As) termasuk Kromium (Cr) adalah kelompok logam berat yang sangat berbahaya pada manusia pada semua tingkat umur. Pb apabila terpapar pada anak-anak dapat berakibat terjadinya kerusakan otak dan jaringan syaraf lainnya dan juga rentan sebagai penyebab utama kerusakan ginjal. Paparan Hg pada seseorang merupakan zat penyebab kerusakan ginjal untuk semua golongan umur, juga dapat mengganggu pertumbuhan hingga kematian karena dapat membentuk kompleks dengan system metabolisme tubuh, mengikat system enzim dalam tubuh sehingga metabolisme tidak berjalan. Secara umum terdapat beberapa macam masalah kesehatan terhadap manusia yang diakibatkan oleh paparan logam berat, misalnya sakit kepala, lemas, iritasi, ruam kulit, mual, sesak napas dan pada konsentrasi tertentu dan lamanya paparan dapat menimbulkan kematian.

Masalah lain yang dapat timbul akibat pencemaran tanah adalah dampak negatif terhadap ekosistem. Perubahan kimiawi tanah yang ekstrim dapat timbul akibat adanya bahan kimia beracun/berbahaya bahkan pada dosis rendah sekalipun, sehingga ketidak seimbangan penguraian dalam tanah oleh mikroorganisme terjadi akibat jasad renik (mikroorganisme) dan antropoda yang hidup dalam lingkungan tanah mengalami reposisi untuk menemukan keseimbangan baru. Keadaan ini berakibat adanya beberapa hewan renik tanah mati atau mengalami mutasi dan perubahan karakter terhadap mekanisme dalam aktivitas metabolisme tanah. Kondisi ini menyasar pada aktivitas pertanian terutama perubahan metabolisme tanaman, sehingga potensial terjadi tidak tersedianya nutrisi yang dibutuhkan tanaman tertentu, akibatnya volume produksi pertanian mengalami penurunan, simultan dengan produksi pertanian yang kurang berkualitas. Dampak berantai adalah konservasi tanaman dimana kapasitas lapang tanaman menurun drastis dan tidak mampu menahan lapisan tanah dari erosi. Beberapa bahan pencemar tanah tersebut memiliki waktu paruh yang panjang, bahkan bahan polutan ini berpotensi menghasilkan senyawa kimia derivatif yang juga potensial memiliki dampak negatif terhadap daya dukung dan kualitas tanah. Pencegahan terjadinya pencemaran tanah adalah kebutuhan yang harus dilakukan oleh setiap lapisan masyarakat dan dukungan regulasi yang ada, sedangkan tanah yang sudah tercemar dapat dikelola dengan menerapkan suatu metode pemulihan tanah yang dikenal dengan istilah remediasi lahan.

2.1.3 Pencemaran Udara

Pencemaran udara didefinisikan adanya material/substansi fisik, kimia atau biologi di dalam atmosfer dalam jumlah tertentu yang dapat membahayakan kesehatan manusia, hewan dan tumbuhan, serta mengganggu estetika dan kenyamanan atau merusak properti dan komposisi dalam atmosfer. Sumber-sumber pencemar udara dapat berasal secara alami (gunung meletus, semburan gas dari dalam tanah, asap dari kebakaran hutan dan lainnya) maupun kegiatan manusia yang menghasilkan buangan ke udara baik langsung maupun tak langsung. Gangguan fisik udara dapat berupa polusi udara oleh gas tertentu, timbulnya panas, adanya radiasi, polusi cahaya yang menyebabkan

terjadinya perubahan sifat alami udara dan mengakibatkan dampak langsung dalam skala lokal, regional maupun global.

Pencemaran udara dikelompokkan dalam dua bagian, yaitu pencemar primer dan pencemar sekunder. Pencemar primer adalah substansi pencemar yang ditimbulkan langsung dari sumber pencemaran, contohnya kadar karbon monoksida (CO) dalam udara yang lebih tinggi dari keadaan alamiah dan mencapai konsentrasi yang dianggap dapat membahayakan kesehatan, dimana CO maupun CO₂ ini merupakan hasil pembakaran, sedangkan pencemar sekunder adalah substansi pencemaran yang terbentuk dari hasil reaksi komponen pencemar primer yang terjadi secara alamiah di udara. Contoh pencemar sekunder di udara adalah pembentukan ozon dalam *smog* fotokimia. Pencemaran udara dewasa ini telah menimbulkan kekhawatiran tinggi karena perkiraan timbulnya efek dari emisi polusi udara dalam konteks sangat luas yakni potensi terjadinya pemanasan global yang dapat memberi dampak buruk terhadap aktivitas manusia, transportasi, industri termasuk pembangkit listrik.

Pencemaran sekunder yang ada di udara dapat terjadi oleh aktivitas pembakaran (perapian, kompor, *furnace*, *incinerator* dengan berbagai jenis bahan bakar), termasuk pembakaran biomassa, gas buang pabrik yang menghasilkan gas buang berbahaya seperti CFC. Sumber pencemaran primer di udara yang sifatnya terjadi secara alamiah, seperti letusan gunung berapi, kebakaran rawa-rawa, kebakaran hutan denitrifikasi di udara dan aktivitas vegetasi yang menghasilkan senyawa organik volatil dalam jumlah volume tertentu dapat bereaksi alamiah dengan polutan antropogenik lainnya di udara, kesemuanya berpotensi menghasilkan polutan sekunder.

Jenis-jenis material pencemar udara (polutan) seperti karbon mono dan dioksida (CO, CO₂), Oksida nitrogen (NO, NO₂, NO₃), Oksida sulfur (SO₂ dan SO₃), CFC, gas hidrokarbon, senyawa organik volatil, partikulat, radikal bebas adalah bahan pencemaran yang potensial memberi dampak negatif pada kesehatan manusia. Substansi pencemar udara seperti di atas dapat terkontaminasi dalam tubuh melalui pernapasan yang menimbulkan masalah kesehatan khususnya gangguan pada saluran pernapasan atas jika partikulat paparan berukuran besar, sedangkan partikulat berukuran kecil dapat menjalar hingga saluran pernapasan dalam seperti paru-paru. Zat

pencemar berupa partikulat berukuran kecil tersebut secara berlahan dan masif diserap oleh system peredaran darah dan selanjutnya menyebar keseluruh tubuh.

Pencemaran udara berdampak besar pada kehidupan manusia baik langsung maupun tidak langsung terutama dampak aspek kesehatan, dimana pencemaran udara karena adanya input material dalam udara berupa zat golongan toksik, karsiogenik dan mutagenik, yang paling umum dijumpai adalah Infeksi Saluran Pernapasan Atas (ISPA), termasuk *Bronchitis* dan gangguan pernapasan lainnya. Keadaan seperti ini sangat patut diwaspadai khususnya bagi penduduk yang tinggal di kota-kota besar seperti Jakarta, Surabaya, Medan dan Makassar dimana tingkat kepadatan kendaraan sangat tinggi, tingkat populasi dan mobilitas penduduk besar, akibatnya dinamika kendaraan yang masif, sehingga sangat potensial polutan logam berat seperti timbal (Pb) dengan kadar tinggi. Demikian pula pada daerah yang memiliki industri pertambangan juga lingkungan udaranya potensial terpapar polutan logam berat, zat karsinogenik dan mutagenik dari pembakaran batubara dan aktivitas eksploitasi serta eksplorasi pada tambang minyak bumi.

Dampak pencemaran udara terhadap tanaman/aktivitas produksi dan budidaya pertanian dan perkebunan juga sangat potensial terpapar dengan berbagai jenis polutan zat pencemar udara, tanpa kecuali sumber pencemar dapat berasal dari aktivitas pertanian dan perkebunan seperti pada penyemprotan pestisida dan herbisida. Dengan demikian tanaman ini dapat mengalami gangguan pertumbuhan dan rawan penyakit, seperti klorosis, nekrosis, dan bintik hitam karena kekurangan zat klorofil oleh terhambatnya proses fotosintesis akibat terjadinya hambatan asimilasi sinar matahari oleh partikulat terdeposisi dalam permukaan tanaman.

Dampak lainnya yang bisa terjadi akibat pencemaran udara adalah hujan asam, disebabkan oleh kandungan CO₂ di atmosfer meningkat tajam yang pada keadaan yang bersamaan dengan hadirnya gas pencemar lainnya seperti SO₂ dan NO₂, secara alamiah dapat bereaksi dengan air hujan membentuk asam, sehingga pH air hujan menurun. Bila terjadi hujan asam, maka memberikan dapat negatif berantai misalnya: menurunkan kualitas air permukaan, melarutkan logam-logam berat tertentu yang mempengaruhi kualitas air tanah dan air permukaan,

merusak tanaman, menimbulkan sifat korosif dan dapat merusak material bangunan. Kemungkinan lain yang dapat terjadi akibat pencemaran udara adalah efek rumah kaca disebabkan karena keberadaan gas CO₂, metana, CFC, ozon dan N₂O di lapisan troposfer menimbulkan radiasi panas matahari yang dipantulkan oleh permukaan bumi. Keadaan ini menyebabkan terperangkapnya panas dalam lapisan troposfer yang menimbulkan efek panas yang lazim disebut fenomena pemanasan global. Efek pemanasan global yang mungkin terjadi adalah pencairan es di zona kutub menyebabkan permukaan air laut meningkat dan sebagian daratan akan tergenang, peningkatan rata-rata suhu muka bumi berpotensi timbulnya penyakit tertentu, perubahan iklim regional dan global serta potensial terjadi gangguan siklus terhadap fauna dan flora.

Pencemaran udara yang memicu terjadinya perubahan iklim dan pemanasan global dapat mengancam kerusakan terhadap lapisan ozon yang berada pada ketinggian 20-35 km, dimana lapisan ini merupakan perisai alami bumi, karena fungsinya sebagai filter radiasi ultraviolet sinar matahari. Proses pembentukan dan penguraian molekul-molekul ozon (O₃) terjadi secara alami di lapisan stratosfer. Adanya emisi CFC yang mencapai lapisan stratosfer dan bersifat stabil menyebabkan laju penguraian molekul-molekul ozon mengalami perubahan cepat dari pembentukannya, sehingga lapisan ozon menipis atau mungkin terbentuk lubang pada lapisan ozon, sehingga ozon kehilangan fungsi sebagai filter sinar UV matahari, dengan demikian potensi iritasi kulit pada manusia dan gangguan pertumbuhan tanaman terganggu, dengan kata lain sangat potensial terjadinya penyakit tertentu seperti penyakit kulit dan penyakit turunan lainnya.

2.1.4 Pencemaran Suara

Pencemaran suara merupakan bagian dari pencemaran lingkungan, karena pencemaran suara didefinisikan masuknya suara yang sangat banyak sehingga mengganggu kenyamanan dan ketentraman terhadap lingkungan manusia dan hewan disekitarnya. Kehidupan modern sepertinya jadi perjuangan yang tak berkesudahan untuk melawan hiruk-pikuk kesibukan atas dinamika kehidupan yang kian meningkat. Saat berada di rumah, telinga kita diisi oleh riuhnya suara binatang peliharaan, suara AC, televisi, dan banyak hal lain. Saat berada di jalan, kita juga

mendengar keriuhan lain: aktivitas proyek pembangunan fisik, suara kendaraan umum yang mendern dan musik yang dinyalakan orang lain. Pencemaran suara merupakan ancaman serius bagi kesehatan lingkungan, terutama berkaitan dengan suasana kenyamanan.

Beberapa peristilahan berkaitan dengan pencemaran udara, yakni Pencemaran udara dipahami sebagai masuknya atau dimasukkannya zat, energi, dan/atau komponen lain ke dalam udara ambien oleh kegiatan manusia, sehingga mutu udara ambien turun sampai ke tingkat tertentu yang menyebabkan udara ambien tidak dapat memenuhi fungsinya. Pengendalian pencemaran udara dilakukan sebagai upaya pencegahan dan/atau penanggulangan pencemaran udara serta pemulihan mutu udara, dimana sumber pencemar udara adalah setiap usaha dan/atau kegiatan yang mengeluarkan bahan pencemar ke udara yang menyebabkan udara tidak dapat berfungsi sebagaimana mestinya. Mutu udara bebas dipermukaan bumi pada lapisan troposfir yang berada di dalam wilayah yurisdiksi Republik Indonesia yang dibutuhkan dan mempengaruhi kesehatan manusia, makhluk hidup dan unsur lingkungan hidup lainnya. Mutu udara ambien adalah konsentrasi zat, energi, dan/atau komponen lain yang ada di udara bebas sedangkan status mutu udara ambien adalah keadaan mutu udara di suatu tempat pada saat dilakukan inventarisasi. Baku mutu udara ambien yang merupakan ukuran batas atau konsentrasi zat, energi, dan/atau komponen yang ada atau yang seharusnya ada atau unsur pencemar yang ditenggang keberadaannya dalam udara ambien, sehingga dilakukan upaya perlindungan mutu udara ambien yang dilakukan agar udara ambien dapat memenuhi fungsi sebagaimana mestinya.

Keberadaan emisi oleh konsentrasi zat, energi atau komponen lain yang dihasilkan dari suatu kegiatan yang masuk atau dimasukkannya ke dalam udara ambien yang mempunyai potensi maupun tidak mempunyai potensi sebagai unsur pencemar, sedangkan mutu emisi adalah zat atau komponen yang boleh dibuang oleh suatu kegiatan ke udara ambien. Sumber emisi setiap usaha dan kegiatan yang mengeluarkan emisi dari sumber bergerak, sumber bergerak spesifik, sumber tidak bergerak maupun sumber tidak bergerak spesifik. Sumber bergerak merupakan sumber emisi yang bergerak atau tidak tetap pada suatu tempat yang

berasal dari kendaraan bermotor, sumber bergerak spesifik adalah sumber emisi yang bergerak atau tidak tetap pada suatu tempat yang berasal dari berbagai sumber seperti kereta api, pesawat terbang, kapal laut dan kendaraan berat lainnya, sedangkan sumber tidak bergerak merupakan sumber emisi yang tetap pada suatu tempat. Ambang batas emisi gas buang kendaraan bermotor adalah batas maksimum zat atau bahan pencemar yang boleh dikeluarkan langsung dari pipa gas buang kendaraan bermotor. Istilah uji tipe emisi adalah pengujian emisi terhadap kendaraan bermotor tipe baru. Uji tipe kebisingan dilakukan untuk melakukan pengujian tingkat kebisingan terhadap kendaraan bermotor tipe baru dengan menggunakan Indeks Standar Pencemar Udara (ISPU) sebagai ukuran angka yang tidak mempunyai satuan yang menggambarkan kondisi mutu udara ambien di lokasi tertentu, yang didasarkan kepada dampak terhadap kesehatan manusia, nilai estetika dan makhluk hidup lainnya. Pengendalian pencemaran udara meliputi pencegahan dan penanggulangan pencemaran, serta pemulihan mutu udara dengan melakukan inventarisasi mutu udara ambien, pencegahan sumber pencemar, baik dari sumber bergerak maupun sumber tidak bergerak termasuk sumber gangguan serta penanggulangan keadaan darurat.

Salah satu sumber pencemaran suara adalah kebisingan, yaitu bunyi atau suara bising dengan kekuatan atau intensitasnya melampaui 50 desibel dan frekuensi yang sangat tinggi di atas 20.000 Hz dan terjadi dalam waktu panjang berpotensi menimbulkan gangguan dan merusak pendengaran manusia. Suara intensitas tinggi biasanya dikeluarkan oleh mesin industri, kendaraan bermotor, termasuk bunyi pesawat terbang, apabila terjadi terus menerus dalam waktu lama, berpotensi mengganggu kesehatan pendengaran manusia, bahkan dapat menyebabkan cacat pendengaran yang permanen. Hasil survei yang dilakukan Kementerian Kesehatan bekerja sama dengan Universitas Indonesia Fakultas Kedokteran, dilakukan terhadap 20.000 orang di tujuh provinsi, menyimpulkan bahwa sekitar 38 juta penduduk Indonesia terganggu pendengarannya. Kesimpulan ini didasarkan dari hasil penelitian berbagai ahli dan berdasarkan temuan-temuan dan realita yang diamati dalam kehidupan sehari-hari.

2.2 Limbah Bahan Berbahaya dan Beracun (B3)

Secara umum limbah dipahami sebagai bahan sisa yang dihasilkan dari suatu aktivitas atau kegiatan dan proses produksi pada skala rumah tangga, skala industri, skala besar seperti kegiatan pertambangan, dan sebagainya. Bentuk limbah yang dihasilkan dapat berwujud gas, partikulat (debu), cair atau padatan. Di antara berbagai jenis limbah tersebut ada yang kategori beracun atau berbahaya dan dikenal sebagai limbah Bahan Berbahaya dan Beracun (Limbah B3). Limbah dapat digolongkan sebagai limbah B3 bila mengandung bahan berbahaya atau beracun berdasarkan sifat atau karena konsentrasinya dalam ukuran tertentu, baik langsung maupun tidak langsung, menimbulkan masalah pencemaran terhadap lingkungan hidup atau membahayakan kesehatan manusia dan hewan serta makhluk lainnya seperti jasad renek tanah. Material atau bahan yang termasuk golongan limbah B3 antara lain adalah bahan yang memiliki sifat berbahaya dan beracun yang tidak digunakan lagi karena rusak, berupa tumpahan, sisa kemasan, sisa proses, termasuk oli bekas kapal, cucian sisa minyak mentah dari kapal (ballas) yang memerlukan penanganan dan pengolahan khusus.

Berdasarkan sumbernya limbah terdiri atas: 1) Limbah domestik/rumah tangga, yaitu limbah yang berasal dari pembuangan sisa rumah tangga/pemukman masyarakat (sisa sayuran, kotoran, dan jenis lainnya); 2) Limbah komersial, yaitu limbah yang berasal dari aktivitas perdagangan/pasar dan jasa komersial (tomat busuk, sayuran busuk, potongan rambut, bekas suntikan, dan jenis lainnya); 3) Limbah industri, yaitu limbah yang berasal dari industry (gedak, sisa kain, dan jenis lainnya); 4) Limbah nuklir limbah yang berasal dari hasil pembuangan reaktor nuklir (radiasi nuklir); dan 5) Limbah alam, yaitu limbah yang berasal dari alam (ranting pohon, daun kering, akar dan jenis lainnya). Berdasarkan jenis senyawanya, limbah terdiri atas: 1) limbah organik, yaitu limbah yang dapat diuraikan oleh bakteri pembusuk/mikroba, (sisa sayuran, bangkai makhluk hidup, daun-daunan, ranting, dan jenis lainnya); dan 2) limbah anorganik, yaitu limbah yang tidak dapat terurai oleh bakteri pembusuk, seperti (kaca, plastik, kramik, kaleng, dan jenis lainnya); dan 3) Sampah bahan berbahaya dan beracun (B3): limbah dari

bahan-bahan berbahaya dan beracun seperti limbah rumah sakit, limbah pabrik dan lain-lain.

Material atau bahan yang termasuk jenis limbah B3 bila memiliki salah satu atau lebih dari karakteristik berikut: 1) kategori limbah mudah terbakar apabila limbah tersebut berdekatan dengan api, adanya percikan api, adanya gesekan atau sumber nyala lain menyebabkan terjadinya nyala atau terbakar dan bila telah menyala akan terus terbakar hebat dalam waktu tertentu; 2) golongan limbah mudah meledak, yaitu limbah yang melalui reaksi kimia dapat menghasilkan gas pada suhu atau tekanan tinggi atau keduanya, dengan cepat dapat merusak lingkungan; 3) golongan limbah bersifat reaktif, apabila menyebabkan kebakaran hebat karena melepaskan atau menerima oksigen atau limbah organik lainnya seperti peroksida yang tidak stabil dalam suhu tinggi dan beracun; 4) golongan limbah korosif, yaitu limbah yang menyebabkan iritasi pada kulit atau mengkorosikan baja karena memiliki pH sama atau kurang dari 2.0, limbah jenis ini, yang bersifat asam dan lebih besar dari 12,5 untuk yang bersifat basa; 5) golongan limbah yang menyebabkan terjadinya infeksi, yaitu kategori limbah berupa sampah laboratorium yang terinfeksi penyakit atau limbah yang mengandung kuman penyakit, seperti bagian tubuh manusia yang diamputasi dan cairan tubuh manusia yang terkena infeksi; dan 6) golongan limbah beracun adalah limbah yang mengandung racun yang berbahaya bagi manusia dan lingkungan, dapat menimbulkan kematian atau sakit bila masuk ke dalam tubuh melalui pernapasan, kulit atau mulut dalam paparan konsentrasi tertentu. Jenis-jenis limbah tersebut apabila diuji dengan metode toksikologi lingkungan dapat diketahui sebagai golongan limbah B3.

Jenis limbah yang menjadi perhatian dunia dewasa ini dan banyak dibicarakan karena memerlukan perlakuan khusus dalam penanganan dan pengelolaannya, seperti penyimpanan, penanganan dan pengelolaan dengan teknologi spesifik, adalah jenis limbah yang termasuk dalam kategori B3. Limbah B3 memiliki karakteristik tertentu, sifat yang khas, daya toksisitas tinggi, sifat karsinogenik dan mutagenik, sehingga masalah-masalah negatif yang dapat ditimbulkan terhadap makhluk hidup (hewan, tumbuhan, manusia), jika keberadaannya dalam zona paparan dari limbah tersebut, termasuk regulasi yang dibutuhkan untuk

pengelolaan dan penanganannya. Ada 14 ketentuan yang diterbitkan pemerintah terkait dengan pengaturan tentang pengelolaan limbah B3, meliputi Peraturan Pemerintah (PP) dan Keputusan Menteri Lingkungan Hidup. Limbah B3 menurut PP.18/1999, jo PP No. 85 /1999, tentang pengaturan sisa suatu usaha dan atau kegiatan yang mengandung bahan berbahaya dan atau beracun baik karena konsentrasinya dan/atau jumlahnya yang keberadaannya baik langsung maupun tidak langsung yang dapat mencemarkan dan atau berdampak pada rusaknya lingkungan hidup dan atau dapat membahayakan lingkungan hidup, kesehatan, kelangsungan hidup manusia serta mahluk hidup lain. Demikian pula menurut definisi pemerintah berdasarkan PP 74/2001, menyatakan bahwa Bahan Berbahaya dan Beracun (B3) adalah material tertentu yang karena sifat dan atau konsentrasinya, jumlahnya, baik secara langsung maupun tidak langsung dapat mencemarkan dan atau merusak lingkungan hidup, dan atau dapat membahayakan keberlanjutan lingkungan hidup, kesehatan, kelangsungan hidup manusia serta mahluk hidup lainnya.

Penentuan limbah B3 tergantung pada aplikasi serangkaian kriteria tertentu, meliputi: daftar spesifik bahan kimia dan turunannya, kriteria ditetapkan melalui pengujian *toksisty*, *Chracteristics Leaching Procedure* (TCLP) yang digunakan dan atau gabungan kedua metode tersebut. Beberapa sumber potensi penyumbang adanya limbah B3, misalnya: kegiatan domestik, kegiatan Industri dan Jasa, sisa pemakaian, jenis barang *Off-spec*, kadaluwarsa, tumpahan/bocoran dan lain-lain, lalu kemudian sumber-sumber potensial penyumbang limbah ditentukan dengan pengujian yang sesuai untuk menentukan golongan limbah tersebut apakah dikelompokkan dalam salah satu dari tiga kategori besar, yakni limbah B3, limbah radioaktif dan limbah non B3. Berdasarkan beberapa temuan dan fakta di lapangan, ditemukan bahwa umumnya limbah kategori B3 sebagian besar berasal dari aktivitas industri dan limbah domestik.

Beberapa prinsip yang hendaknya dimiliki untuk menekan volume limbah B3 adalah: 1) Jangan memproduksi limbah B3, 2) selalu ada upaya untuk meminimalisasi bertambahnya volume limbah B3, 3) reduksi apabila memungkinkan dilakukan, 4) segera melakukan *recovery*, termasuk melakukan *Reuse* dan *Recycling*, 5) melakukan penerapan

teknologi dalam produk tidak boleh menimbulkan masalah terhadap makhluk hidup dan lingkungan, 6) melakukan penyimpanan sesuai SOP, 7) melakukan pembuangan secara aman dan terkendali (tidak membahayakan kesehatan masyarakat dan lingkungan hidup).

Metode yang dapat ditempu dalam pengolahan limbah B3 secara umum dapat dilakukan diawali dengan penetapan objek penghasil limbah, lalu melakukan observasi dan karakterisasi sesuai dengan kebutuhan, kemudian pemilihan metode pengolahan limbah yang sesuai. Salah satu dari 2 metode pengolahan limbah yang sering dilakukan, yakni: *pertama* tahapan pengolahan limbah secara langsung dengan tujuan perolehan kembali (*recovery*), *kedua* dilakukan penyimpanan *system on site*. Metode cara pertama selanjutnya adalah masuk ke tahap pengumpulan dan pengangkutan, tahapan selanjutnya adalah pentahapan berupa penyimpanan sementara, pengolahan, pengangkutan dan tahap pembuangan akhir, sedangkan apabila memilih cara kedua, tahap selanjutnya adalah perolehan/ penggunaan kembali, lalu masuk ke tahap pengangkutan dan akhirnya sampai pada tahap pembuangan akhir. Penanganan limbah B3 dilakukan dengan mengikuti tahapan berikut: pelabelan/penandaan limbah B3, pengemasan, penyimpanan, pengumpulan dan pengangkutan.

Pemberian symbol dan label pada limbah B3 dimaksudkan untuk memudahkan dalam pengklasifikasian limbah, sehingga pengelolaannya dapat dilakukan dengan baik, tepat dan efisien, guna mengurangi resiko yang dapat ditimbulkan. Pelabelan dilakukan dengan membubuhkan tulisan tertentu yang menunjukkan karakteristik dan jenis kontaminan misalnya jenis bahan kimia tertentu yang berbahaya dan beracun. Sedangkan pada penggunaan symbol dilakukan dengan cara pencantuman gambar spesifik yang menyatakan karakteristik bahan kontaminan atau kimia berbahaya dan beracun yang dimaksud.

Prinsip-prinsip dalam melakukan pengemasan dan kemasan B3: adalah antara lain: limbah B3 atau bahan lain yang tidak selaras tidak boleh disimpan dalam kemasan yang sama, jika kemasan rusak atau karat, terdapat kerusakan fisik, bocor, isinya harus dikeluarkan dan dikemas kembali, pencegahan terjadinya risiko, selama penyimpanan, kemasan harus dirancang dengan memperhitungkan peningkatan perluasan,

formasi gas atau tekanan, kemasan yang memuat limbah B3 harus ditandai dan disimpan secara konsisten. Menurut peraturan BAPEDAL untuk pengemasan, kemasan yang memuat limbah B3 harus diinspeksi minimum 1 (satu) kali per minggu, dimaksudkan untuk menegaskan bahwa kemasan tidak rusak dan tidak bocor, kemasan, penyimpanan dan pengumpulan harus dicatat sebagai bagian normal dari aktivitas pengolahan limbah B3.

Penyimpanan limbah B3 umumnya dilakukan dengan menggunakan kemasan tangki, mengikuti prosedur berikut: mengantongi ijin ke BAPEDAL (Kep 01/Bapedal/09/1995), dengan memperhatikan hal-hal, diantaranya: sifat limbah B3 yang akan disimpan, rancangan sistem tangki dengan peralatan tambahan yang akan dipasang, evaluasi kemungkinan karat dari tangga kemasan/penyimpanan, masa hidup operasional yang diperkirakan dan rencana penghentian dan termasuk pasca penggunaan. Pengelolaan dan pengolahan limbah B3 harus dilakukan dengan baik dan konsisten. Metode yang direkomendasikan diterapkan pada pengolahan limbah B3 adalah metode remediasi baik dengan menggunakan mikroorganisme tertentu ataupun menggunakan bagian tumbuhan yang dikenal dengan istilah fitoremediasi, biodegradasi atau biopborspi untuk limbah B3 terkontaminasi logam berat.

2.3 Limbah Radioaktif

Limbah radioaktif adalah jenis limbah yang mengandung atau terkontaminasi radionuklida pada konsentrasi atau aktivitas yang melebihi batas maksimum yang diijinkan (*Clearance level*) yang ditetapkan oleh Badan Pengawas Tenaga Nuklir. Definisi di atas dikuatkan dengan undang-undang dan digunakan di dalam peraturan perundang-undangan.

Sampah nuklir merupakan hasil dari reaksi fusi nuklir dan reaksi fisi nuklir yang menghasilkan uranium dan thorium yang sangat berbahaya bagi lingkungan hidup dan juga manusia. Oleh karena itu sampah nuklir disimpan ditempat-tempat yang tidak berpotensi tinggi untuk melakukan aktivitas tempat-tempat yang dituju biasanya bekas tambang garam atau dasar laut (walau jarang namun kadang masih dilakukan). Sumber limbah radioaktif umumnya berasal dari pemanfaatan tenaga nuklir, baik pemanfaatan untuk pembangkitan daya listrik dengan menggunakan reaktor nuklir maupun pemanfaatan nuklir untuk keperluan industri

tertentu, pengoperasian kapal ukuran besar dan penggunaan pada rumah sakit.

Klasifikasi limbah radioaktif berdasarkan undang-undang Nomor: 10/1997, tentang ketenaganukliran, membagi limbah radioaktif menjadi 3 (tiga) jenis, yaitu: (1) limbah tingkat rendah (*Low Level waste-LLN*); (2) Limbah tingkat sedang (*Intermediate Level Waste – ILW*); dan limbah tingkat tinggi (*High Level Waste - HLW*). Pengelolaan dan penanganan limbah radioaktif harus dilakukan dengan konsisten dan penerapan teknologi tinggi, sehingga pengelolaan limbah jenis ini dikuatkan dengan dikeluarkannya PP No. 27 Tahun 2002, tentang pengelolaan limbah radioaktif aktivitas rendah, sedang dan tinggi.

Limbah radioaktif aktivitas rendah sering diistilakan dengan limbah radioaktif di atas aman (*clearance level*) adalah limbah radioaktif yang tidak memerlukan penahan radiasi selama proses penanganan selama dilakukan pengolahan dalam keadaan normal misalnya pengangkutan. Limbah radioaktif dengan aktivitas sedang atau di atas tingkat rendah tetapi di bawah tingkat tinggi dalam penanganannya tidak memerlukan pendinginan, namun memerlukan penahan radiasi selama penanganan dalam keadaan normal dan saat pengangkutan, sedangkan limbah radioaktif dengan tingkat aktivitas tinggi atau di atas tingkat sedang dalam penanganannya memerlukan pendingin dan penahan radiasi dalam penanganan pada keadaan normal dan pengangkutan, termasuk bahan bakar nuklir.

Secara umum, pengelolaan limbah nuklir yang lazim digunakan, khususnya oleh negara-negara maju meliputi tiga pendekatan pokok yang bergantung pada besar dan kecilnya volume limbah, tinggi rendahnya aktivitas zat radioaktif yang terkandung dalam limbah, serta sifat-sifat fisika dan kimia limbah tersebut. Tiga pendekatan pokok itu meliputi: 1) Limbah nuklir dikelola dengan cara dipekatkan dan dipadatkan yang pelaksanaannya dilakukan dalam wadah khusus, selanjutnya disimpan dalam jangka waktu yang cukup lama. Cara ini efektif untuk menangani limbah nuklir cair yang mengandung zat radioaktif beraktivitas sedang dan atau tinggi; 2) Limbah nuklir disimpan dan dibiarkan meluruh dalam tempat penyimpanan khusus sampai aktivitasnya sama dengan aktivitas zat radioaktif lingkungan. Cara ini efektif bila dipakai untuk pengelolaan

limbah nuklir cair atau padat yang beraktivitas rendah dan memiliki waktu paruh pendek; dan 3) Limbah nuklir diencerkan dan didispersikan ke lingkungan. Cara ini efektif dalam pengelolaan limbah nuklir cair dan gas beraktivitas rendah.

Kebijakan pengelolaan limbah radioaktif, khususnya limbah radioaktif tinggi dan bahan bakar nuklir (BBN) bekas di tiap negara industri nuklir selain berbeda juga masih berubah-ubah. Beberapa negara melakukan pilihan olah-ulang (daur-tertutup) untuk pemanfaatan material fisil dan fertil yang masih terkandung dan sekaligus mereduksi volumenya. Strategi yang dapat dikembangkan dalam pembuangan limbah radioaktif umumnya dibagi kedalam dua konsep pendekatan, yaitu konsep "Encerkan dan Sebarkan" (EDS) atau "Pekatkan dan Tahan" (PDT). Kedua strategi ini umumnya diterapkan dalam pemanfaatan iptek nuklir di negara industri nuklir, sehingga tidak dapat dihindarkan dan menggugurkan strategi zero release. Pembuangan efluen pada pengoperasian instalasi nuklir tidak dapat dihindarkan terjadinya pembuangan efluen ke atmosfer dan ke badan-air. Efluen gas/partikulat yang dibuang langsung ke atmosfer, umumnya berasal dari sistem ventilasi. Secara umum udara sistem ventilasi di tiap instalasi nuklir sebelum dibuang ke atmosfer melalui cerobong, dibersihkan kandungan gas/partikulat radioaktif yang terkandung di dalamnya dengan sistem pembersih udara yang mempunyai efisiensi 99,9 %.

Efluen cair yang dapat dibuang langsung ke badan-air hanya berasal sistem ventilasi dan dari unit pengolahan limbah cair radioaktif. Tiap jenis radionuklida yang terdapat dalam efluen yang di buang ke lingkungan harus mempunyai konsentrasi di bawah BME. Pembuangan efluen radioaktif secara langsung, setelah proses pengolahan/dibersihkan dan setelah peluruhan ke lingkungan merupakan penerapan strategi EDS. Dalam pembuangan secara langsung, setelah dibersihkan dan setelah peluruhan aktivitas/konsentrasi radionuklida yang terdapat dalam efluen harus berada di bawah BME. Radionuklida yang terdapat dalam efluen akan terdispersi dan selanjutnya melauai berbagai jalur perantara (*pathway*) yang terdapat di lingkungan akan sampai pada manusia sehingga mempunyai potensi meningkatkan penerimaan dosis terhadap anggota masyarakat. Penerimaan dosis terhadap anggota masyarakat ini harus

dibatasi serendah-rendahnya (penerapan azas optimasi). Dosis maksimal yang diperkenankan dapat diterima anggota masyarakat dari pembuangan efluen ke lingkungan dari seluruh jalur perantara yang mungkin adalah 0,3 mSv/tahun. Dosis pembatas (*dose constrain*) sebesar 0,3 mSv memberikan kemungkinan efek somatik hanya sebesar $3,3 \times 10^{-6}$. Berdasarkan dosis pembatas ini BME tiap jenis radionuklida yang diizinkan terdapat dalam efluen dapat dihitung dengan teknik menghitung balik pada metode prakiraan dosis. BME tiap jenis radioaktif ini harus mendapat izin dan tiap jenis radionuklida yang terlepas ke lingkungan harus dimonitor secara berkala dan dilaporkan ke Badan Pengawas. BME tiap jenis radioanuklida yang diperkenankan terdapat dalam efluen radioaktif yang dibuang ke lingkungan untuk tiap instalasi nuklir. Sebagai contoh dapat dilihat untuk BME PPTN Serpong telah dihitung dengan metode faktor konsentrasi (*concentration factor method*) dan telah diterapkan semenjak reaktor G.A. Siwabessy yang dioperasikan pada bulan Agustus 1987.

2.4 Sampah

Sampah merupakan material sisa yang tidak diinginkan setelah berakhirnya suatu proses. Sampah didefinisikan berdasarkan derajat keterpakaianya dalam proses alam. Sebenarnya tidak ada istilah sampah dan konsep sampah, yang ada hanya produk yang dihasilkan setelah dan selama proses alam/aktivitas manusia tersebut berlangsung, namun demikian karena dalam kehidupan manusia didefinisikan konsep lingkungan maka sampah dapat dibagi menurut jenis-jenisnya, sehingga istilah sampah didefinisikan sebagai material sisa baik dari hewan, manusia, maupun tumbuhan yang tidak terpakai lagi dan dilepaskan ke alam dalam bentuk padatan, cair ataupun gas. Sampah dibagi dalam dua kelompok, yaitu sampah padat dan cair. Sampah padat ialah hasil sisa dari manusia berupa zat padat dan sebaliknya sampah cair adalah hasil sisa dari manusia berupa zat cair/cairan. Jenis-jenis sampah berdasarkan sumbernya, yaitu: sampah alam, sampah manusia, sampah konsumsi, sampah nuklir, dan sampah pertambangan. Berdasarkan bentuknya, sampah dikelompokkan menjadi sampah padat, sampah cair dan sampah radioaktif.

Sampah padat adalah segala bahan buangan selain kotoran manusia, urine dan sampah cair, dapat berupa sampah rumah tangga: sampah dapur, sampah kebun, plastik, metal, gelas dan lain-lain. Menurut bahannya sampah ini dikelompokkan menjadi sampah organik dan sampah anorganik. Berdasarkan kemampuan diurai oleh alam (*biodegradability*), maka dapat dibagi lagi menjadi: sampah *biodegradable*: yaitu sampah yang dapat diuraikan secara sempurna oleh proses biologi oleh mikroorganisme dalam tanah baik secara aerob atau anaerob, seperti: sampah dapur, sisa-sisa hewan, sampah pertanian dan perkebunan sedangkan sampah *non-biodegradable*, yaitu: sampah yang tidak bisa diuraikan oleh proses biologi. Dapat dibagi lagi menjadi: *Recyclable*, yaitu sampah yang dapat diolah dan digunakan kembali karena memiliki nilai secara ekonomi seperti plastik, kertas, pakaian dan lain-lain. Sampah *non-recyclable*: sampah yang tidak memiliki nilai ekonomi dan tidak dapat diolah atau diubah kembali seperti tetra packs, carbon paper, thermo coal dan lain-lain.

Sampah cair adalah bahan cairan yang telah digunakan dan tidak diperlukan kembali dan dibuang ke tempat pembuangan sampah. Limbah hitam: sampah cair yang dihasilkan dari berbagai sumber, misalnya dari toilet. Sampah ini mengandung mikroorganisme patogen yang berbahaya. Limbah rumah tangga: sampah cair yang dihasilkan dari dapur, kamar mandi dan tempat cucian. Sampah ini mungkin mengandung zat/bahan patogen. Sampah dapat berada pada setiap fase materi: padat, cair, atau gas. Ketika dilepaskan dalam dua fase yang disebutkan terakhir, terutama gas, sampah dapat dikatakan sebagai emisi. Emisi biasa dikaitkan dengan polusi. Sampah dalam jumlah besar datang dari aktivitas industri (dikenal juga dengan sebutan limbah), misalnya pertambangan, manufaktur, dan konsumsi. Hampir semua produk industri, pada akhirnya pada waktu tertentu, produk tersebut segera menjadi sampah dengan jumlah sampah yang kira-kira mirip dengan jumlah konsumsi.

Sampah alam adalah sampah yang diproduksi di kehidupan liar diintegrasikan melalui proses daur ulang alami, seperti halnya daun-daunan kering di hutan yang terurai menjadi tanah. Di luar kehidupan liar, sampah-sampah ini dapat menjadi masalah, misalnya daun kering di lingkungan pemukiman, sedangkan sampah manusia, yaitu jenis sampah

(Inggris: *human waste*) adalah jenis sampah yang biasa digunakan terhadap hasil-hasil pencernaan manusia, seperti feses dan urin. Sampah manusia dapat menjadi bahaya serius bagi kesehatan karena dapat digunakan sebagai vektor (sarana perkembangan) penyakit yang disebabkan virus dan bakteri. Salah satu perkembangan utama pada dialektika manusia adalah pengurangan penularan penyakit melalui sampah manusia dengan cara hidup yang higienis dan sanitasi. Termasuk didalamnya adalah perkembangan teori penyaluran pipa (*plumbing*). Sampah manusia dapat dikurangi dan dipakai ulang misalnya melalui sistem urinoir tanpa air. Jenis sampah lainnya adalah sampah konsumsi sampah yang dihasilkan oleh (manusia) pengguna barang, dengan kata lain adalah sampah-sampah yang dibuang ke tempat sampah. Ini adalah sampah yang umum dipikirkan manusia. Meskipun demikian, jumlah sampah kategori ini pun masih lebih kecil dibandingkan sampah-sampah yang dihasilkan dari proses pertambangan dan industri.

BAB 3 KONTAMINAN SENYAWA KARBON DALAM LINGKUNGAN

3. 1 Hidrokarbon

Senyawa hidrokarbon tersusun atas perikatan antara atom karbon dengan atom hydrogen dalam perbandingan tertentu dan tetap sedemikian rupa dan membentuk molekul atau senyawa. Atom karbon selain dapat membentuk rantai karbon dari perikatan karbon-karbon, juga dapat membentuk ikatan kovalen tunggal, rangkap dua, dan rangkap tiga. Sehingga senyawa hidrokarbon dapat dibagi menjadi 2 kelompok, yakni senyawa hidrokarbon jenuh dan senyawa hidrokarbon tak jenuh. Senyawa hidrokarbon jenuh adalah senyawa hidrokarbon yang terbentuk dari atom karbon dan hydrogen dan memiliki semua ikatan yang terbentuk merupakan ikatan tunggal (jenuh) antara atom karbon membentuk rantai, contoh senyawa karbon jenuh adalah senyawa alkane, sedangkan senyawa hidrokarbon tak jenuh adalah senyawa hidrokarbon yang memiliki satu atau lebih ikatan kovalen rangkap 2 (dua), dan atau 3 (tiga) membentuk rantai ikatan karbon-karbon.

Berdasarkan strukturnya, senyawa karbon dianggap memiliki keunikan dimana, atom karbon dapat membentuk ribuan senyawa karbon yang satu terhadap lainnya, memiliki struktur yang berbeda, sehingga sifat dan fungsinya pun dapat berbeda. Bila memperhatikan tubuh kita sendiri, Nampak bahwa semua bagian dari tubuh kita disusun oleh senyawa karbon yang oleh Tuhan ciptakan sedemikian rupa sehingga menjadi suatu susunan yang utuh dan sempurna namun sangat kompleks. Atom karbon dapat membentuk konfigurasi susunan sedemikian rupa sehingga dapat menghasilkan lebih banyak ragam senyawa jika dibandingkan dengan persenyawaan unsur yang lain, bahkan karbon diketahui tidak hanya membentuk ikatan tunggal, ikatan ganda dua, dan ikatan ganda tiga, tetapi juga dapat membentuk ikatan dengan membentuk struktur siklik atau cincin, karena sedemikian banyaknya senyawa yang tersusun atas ikatan karbon, maka senyawa karbon dijadikan sebagai bagian dari ilmu yang perlu dipelajari lebih banyak dan lebih dalam lagi. Cabang ilmu Kimia yang berkaitan dengan senyawa karbon disebut Ilmu Kimia Organik.

Senyawa karbon dapat dikelompokkan berdasarkan gugus fungsi yang dimilikinya yang memberi penciri khusus sifat dan fungsi senyawa karbon memiliki perbedaan satu terhadap lainnya. Gugus fungsi adalah gugus atom atau molekul yang berperan pada sifat kimia suatu senyawa. Suatu senyawa yang memiliki gugus fungsi sama, akan memiliki kemiripan reaksi. Setiap atom karbon mempunyai empat elektron valensi. Keempatnya dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen dengan atom karbon lain dan atom bukan atom karbon, yang digambarkan sebagai tangan ikatan, sehingga atom karbon dalam senyawa karbon stabil selalu mempunyai empat tangan ikatan. Senyawa alkena terbentuk apabila empat tangan atom karbon tersebut tidak digunakan untuk mengikat atom karbon yang lain melainkan digunakan untuk membentuk ikatan dengan atom bukan karbon, misalnya atom *Hidrogen*. Penggantian sebuah atom H yang mana pun dengan atom klorin menghasilkan senyawa yang lain. Hal ini menunjukkan bahwa semua atom H di dalam senyawa CH_4 mempunyai kedudukan yang identik. Jika dua model molekul metana membentuk ikatan diperoleh molekul baru dengan dua atom karbon didalamnya. Berdasarkan struktur rantai senyawa karbon dikenal istilah senyawa karbon alifatik dan aromatik. Bentuk perikatan atom karbon dalam suatu senyawa karbon, memungkinkan terjadinya perubahan struktur akibat adanya molekul atau senyawa lain yang memiliki perbedaan afinitas, hal ini yang menyebabkan terbentuknya perombakan susunan molekul senyawa karbon menghasilkan senyawa organik baru yang mungkin lebih kompleks atau sederhana dalam bentuk reduksi atau degradasi. Bentuk degradasi senyawa karbon sangat mungkin terjadi dengan adanya senyawa kompleks protein atau sejenisnya atau karena kerja zat berperilaku seperti enzim dalam kerja fermentasi biasanya berlangsung dalam reaksi oksidasi dan reduksi.

3.2 Hidrokarbon Alifatik

Hidrokarbon alifatik adalah senyawa organik yang hanya tersusun dari perikatan antara atom karbon dan hidrogen, membentuk rantai lurus dan struktur rantai bercabang, struktur siklik atau cincin non-aromatik. Senyawa-senyawa karbon alifatik dapat ditemukan terutama dalam minyak mentah dan gas alam. Hidrokarbon alifatik memiliki rasio karbon-hidrogen yang tinggi. Hidrokarbon alifatik dapat dibagi menjadi dua

kelompok sebagai hidrokarbon alifatik jenuh dan hidrokarbon alifatik tak jenuh tergantung pada keberadaan atau tidak adanya ikatan rangkap. Hidrokarbon jenuh hanya terdiri dari ikatan tunggal. Oleh karena itu, hidrokarbon alifatik hanya memiliki ikatan sigma saja. Misalnya, alkana adalah hidrokarbon jenuh. Hidrokarbon tak jenuh terdiri dari ikatan tunggal dan ikatan ganda, sehingga memiliki dua macam struktur ikatan yakni ikatan sigma (σ) dan ikatan phi (π). Beberapa molekul yang ditemukan juga mengandung ikatan rangkap tiga. Alkena dan alkuna adalah hidrokarbon tak jenuh. Sebagian besar hidrokarbon alifatik mudah terbakar. Senyawa ini dapat ditemukan dalam minyak mentah dan sebagai gas alam. Senyawa siklik dapat juga dianggap sebagai hidrokarbon alifatik. Ini karena struktur siklik tersebut tidak beraroma (tidak ada elektron phi (π) yang terdelokalisasi). Sifat senyawa hidrokarbon alifatik lainnya adalah umumnya tidak memiliki bau yang menyengat, mudah terbakar dengan api non-jelaga.

3.2.1 Komponen Kontamina Alkana

Alkana sering disebut dengan istilah paraffin, adalah senyawa kimia hidrokarbon jenuh asiklis. Alkana termasuk senyawa alifatik atau senyawa karbon dengan rantai karbon panjang dengan membentuk ikatan tunggal, tidak memiliki elektron (π) yang terdelokalisasi, memiliki rumus umum yaitu C_nH_{2n+2} . Dari metana ke etana memiliki perbedaan $-CH_2-$, begitu seterusnya. Deret senyawa karbon dengan gugus fungsi sama dan selisih tetap, yakni $-CH_2-$ disebut deret homolog. Alkana juga termasuk senyawa alifatik atau dengan kata lain, alkana adalah sebuah rantai karbon panjang dengan ikatan tunggal. Penamaan alkana mengikuti sistem IUPAC, yaitu sistem tata nama yang didasarkan pada pemahaman bahwa struktur suatu senyawa organik dapat digunakan untuk menurunkan namanya dan sebaliknya, bahwa suatu struktur yang unik dapat digambar untuk tiap nama dan nama senyawa alkana menggambarkan struktur keunikannya. Alkana yang terbentuk dari dua atom karbon tentunya mengikat enam atom hydrogen, sehingga mempunyai rumus molekul C_2H_6 . Jika penggantian atom hydrogen dengan atom karbon dilakukan terus menerus, maka diperoleh struktur baru dengan rantai karbon yang lebih panjang.

Deretan rumus molekul alkana menunjukkan pola susunan setiap anggota yang satu membentuk perikatan anggota lainnya struktur tersebut bertambah sebanyak $-\text{CH}_2-$. Deret senyawa karbon demikian ini disebut deret homolog (*deret homolog alkana*). Deret homolog alkana mempunyai sifat seperti berikut: 1) rumus umum deret homolog alkana yaitu $\text{C}_n\text{H}_{2n+2}$; 2) antara satu anggota ke anggota berikutnya mempunyai pola tetap dengan pembeda $-\text{CH}_2-$; 3) selisih massa rumus satu anggota ke anggota suku berikutnya adalah 14; 4) titik didih semakin tinggi berbanding lurus dengan bertambah panjangnya rantai karbon. Dasar-dasar alkana pemahaman tentang senyawa karbon alkana, yaitu: 1) merupakan senyawa non polar, densitas kurang dari 1, pencampuran air membentuk dua lapisan; 2) larut dalam pelarut organik non polar; 3) Massa rumus (M_r) alkana $\text{C} \leq 4$, berwujud gas, alkana M_r lebih besar berwujud cair, dan alkana $M_r \gg$, berwujud semi padat (lumpur) hingga padat. Semakin besar jumlah atom C, M_r molekul alkana semakin besar, sehingga gaya dispersi tiap molekul $>$, titik didih semakin tinggi dan sebaliknya jika terdapat rantai cabang menyebabkan titik didih semakin rendah; 4) alkana rantai lurus memiliki titik didih lebih tinggi dibanding alkana bercabang dalam jumlah atom padanannya, 5) dipengaruhi oleh gaya van der Waals antar molekul; 6) alkana mudah larut dalam pelarut organik, namun sukar larut dalam air; 7) oksidasi atau pembakaran alkana bersifat eksotermik atau menghasilkan kalor, pada pembakaran tersebut berlangsung sempurna dan tidak sempurna, jika pembakaran sempurna menghasilkan gas CO_2 sedang pembakaran tidak sempurna menghasilkan gas CO ; 8) senyawa alkana rantai panjang dapat mengalami reaksi eliminasi (penghilangan atom/gugus atom untuk mendapatkan senyawa karbon lebih sederhana. Contoh pada reaksi eliminasi termal minyak bumi dan gas alam. Senyawa alkana dapat tersubstitusi dengan molekul lain. Jenis substituen alkana yang sering dijumpai yaitu gugus alkil. Gugus alkil adalah alkana yang tersubstitusi sebanyak 1 atom H. Penamaannya akhiran “ana” pada alkana diubah menjadi “il”, sehingga nama alkana menjadi alkil. Contoh Metana menjadi Metil, etana menjadi etil dan seterusnya.

Kegunaan alkana utamanya sebagai bahan bakar dan bahan baku dalam industri petrokimia. Contoh Metana, digunakan sebagai bahan bakar untuk memasak dan untuk penggunaan lain sebagai bahan baku

pembuatan zat kimia seperti gas hydrogen (H_2) dan gas amonia (NH_3). Senyawa alkana diproduksi dengan mengolah minyak mentah, dimana minyak mentah ini umumnya bercampur dengan sejumlah komponen lainnya, dan pada kondisi tertentu dalam pengolahannya, senantiasa menghasilkan bahan buangan berupa lumpur minyak bumi. Dalam penyimpanannya, lumpur minyak bumi ini dapat saling berinteraksi antara komponen lumpur minyak bumi dan juga interaksi dengan udara, air dan adanya penyinaran matahari, menyebabkan deposit lumpur minyak (*sludge*) ini dapat di tumbuhi oleh mikroorganisme tertentu yang berasal dari udara setelah mengalami adaptasi dengan lingkungan baru dan sel-sel penyusun mikroorganisme ini bermutasi membentuk susunan baru. Proses alamiah ini menyebabkan adanya mikroorganisme (bakteri) yang paling umum dapat menjadikan karbon sebagai nutrient dan sekaligus dijadikan sebagai sumber energy bagi bakteri tersebut untuk perkembangbiakan lebih lanjut. Peristiwa ini berimplikasi positif dengan ditemukannya metode pengolahan limbah minyak bumi dalam teknologi bioteknologi yang saat ini dikenal dengan metode biodegradasi.

3.2.2 Komponen Kontaminan Alkena

Pengertian senyawa alkena dalam Kamus Bahasa Indonesia adalah hidrokarbon tak jenuh yang mempunyai satu atau lebih ikatan kovalen rangkap dua antara atom karbon. Dikenal alkena Asiklik yaitu alkena paling sederhana karena tidak berkaitan dengan Gugus Fungsional manapun dan membentuk satu ikatan rangkap. Ikatan rangkap kovalen diilustrasikan dalam bentuk Orbital Atom yang saling tumpangtindih satu dengan lainnya. Ikatan rangkap karbon umumnya mempunyai tingkat lebih kuat dan lebih besar jika dibandingkan dengan ikatan kovalen rangkap dan disetiap karbon pada ikatan rangkap memakai tiga orbital hidrida untuk membentuk suatu ikatan sigma satu karbon lainnya dan dua atom hidrogen. Tata nama alkena memiliki kesamaan penamaan seperti yang ada didalam tata nama alkana, perbedaannya khusus pada akhiran ‘ana’ pada alkana menjadi ‘ena’ pada alkena. Contoh, jika dalam senyawa alkana C_4H_{10} dinamakan dengan **butana**, maka dalam senyawa alkena untuk jumlah atom relatif sama, yakni C_4H_8 dinamakan **butena**, sehingga

bisa disimpulkan bahwa perbedaan tata nama senyawa alkena dan alkana hanya terdapat pada Akhiran nama saja, yakni *ena* dan *ana*.

Terdapat poin-poin yang penting didalam tata nama senyawa alkena yang mesti dipahami untuk penyebutan senyawa kimia yang mempunyai ikatan rangkap, yakni: 1) senyawa alkena mempunyai ikatan rangkap sehingga penomorannya dalam pemberian nama, tidak dimulai dari yang dekat dengan cabang, tetapi yang dekat dengan ikatan atom -C rangkap, namun khusus untuk ikatan rangkap lurus bisa diawali dengan pemberian angka yang sesuai dan menunjukkan letak ikatan atom -C rangkap dari senyawa alkena tersebut; 2) pada rantai yang bercabang, maka penamaannya dapat ditentukan dari rantai -C utama (terpanjang) yang menjadi suatu dasar penamaan pokok dan atom -C lainnya yang tak terletak didalam rantai, sedangkan untuk senyawa alkil yang tak sejenis dapat ditulis dengan cara diurutkan berdasarkan urutan abjad; 3) molekul alkil yang sejenis dan dikenalkan dengan penambahan awalan di-, jika jumlahnya 2, awalan tri-, jika jumlahnya mencapai 3 dan awalan tetra- jika jumlahnya mencapai 4, dan jika dalam sebuah atom -C pada rantai utama dapat mengikat beberapa gugus yang berbeda maka penulisan nomornya dapat diulangi; 4) Jika dalam suatu Senyawa alkena terdapat lebih dari satu pilihan rantai utama, maka bisa dipilih rantai utama mana yang akan memiliki lebih banyak gugus alkilnya;) jika terdapat lebih dari 1 (satu) ikatan rangkap maka letak ikatan rangkap tersebut disebut satu dan diberikan awalan di- untuk 2 ikatan rangkap, tri- untuk 3 ikatan rangkap dan tetra- untuk 4 ikatan rangkap dan dibelakangnya ditambahkan akhiran *ena*, misalnya 3 metil-2,4-heptadiena, artinya pada -C nomor 3 terdapat cabang metil dan pada -C nomor 2 dan 4 terdapat ikatan rangkap 2, sehingga pada akhiran *ena* dibubuhi awalan di- menjadi -diena..

Sifat senyawa alkena yang umum adalah: 1) semakin banyak atom -C, maka massa Mr akan semakin tinggi demikian pula titik didih senyawa tersebut semakin tinggi dan alkena yang mempunyai isomer, maka akan semakin panjang rantai atom -C, akan semakin tinggi titik didihnya: 2) sifat fisis alkena hampir sama dengan sifat alkana seperti kerapatan didalamnya yang kecil dan tidak akan larut didalam pelarut polar, misalnya air; 3) pada suhu kamar, alkena untuk rantai atom C₁ – C₄ mempunyai wujud gas, jumlah atom C₅ – C₁₇, mempunyai wujud cair,

dan jumlah atom -C lebih dari 17, alkana berwujud Padat; 4) senyawa alkana dapat mengalami reaksi pemutusan ikatan rangkap (reaksi adisi), yaitu reaksi yang mengakibatkan perubahan ikatan tak jenuh menjadi ikatan jenuh; 5) alkana mampu mengalami proses reaksi polimerisasi (penggabungan molekul sejenis menjadi molekul makro) karena mempunyai ikatan yang tak jenuh. Senyawa-senyawa alkana juga dapat mengalami degradasi dengan adanya interaksi mikroorganisme dengan senyawa alkana yang dapat berlangsung secara alamiah apabila dipenuhi kondisi-kondisi dimana mikroorganisme tersebut dapat menjalankan fungsi degradasi sehingga terjadi perombakan struktur molekul alkana.

3.2.3 Komponen Kotaminan Alkana

Alkana adalah senyawa hidrokarbon alifatik tak jenuh yang mempunyai ikatan rangkap 3 (tiga), yaitu ikatan yang dibentuk oleh 1 ikatan sigma (σ) dan 2 ikatan (π). Rumus umum alkana adalah C_nH_{2n-2} . Cara penamaan senyawa alkana hampir sama dengan tata nama penamaan alkana, yakni kata “ena” pada alkana di ubah menjadi “ana” pada senyawa alkana dan didepan nama alkana diberi angka sesuai dengan nomor atom -C yang mengandung ikatan rangkap 3 tersebut, misalnya 3-heksana, menunjukkan bahwa senyawa hidrokarbon tersebut adalah alkana dengan posisi ikatan rangkat 3 pada atom C nomor 3. Alkana rantai bercabang dengan urutan penamaan, yaitu: 1) memilih rantai induk, yaitu rantai karbon terpanjang yang mengandung ikatan rangkap tiga; 2) penomoran alkana dimulai dari salah satu ujung rantai induk, sehingga atom C yang berikatan rangkap tiga mendapat nomor terkecil; 3) alkana hanya mempunyai keisomeran struktur, tidak mempunyai keisomeran geometri.

Sifat fisis alkana sama dengan sifat fisis alkana maupun alkana, sedangkan sifat kimia berupa reaksi alkana mirip dengan alkana, hanya berbeda pada kebutuhan jumlah pereaksi untuk penjenuhan ikatan rangkap. Alkana membutuhkan jumlah pereaksi dua kali kebutuhan pereaksi pada alkana untuk jumlah ikatan rangkap yang sama. Komponen alkana juga dapat mengalami degradasi melalui pemutusan ikatan rangkap oleh bakteri dan sejenisnya, hingga akhirnya membentuk molekul yang sederhana. Degradasi senyawa-senyawa alkana juga dapat terjadi dengan menggunakan biomaterial mikroorganisme. Proses degradasi senyawa alkana diduga kuat diawali dengan adisi ikatan rangkap hingga menjadi

senyawa hidrokarbon jenuh dan proses berikutnya adalah memotong rantai jenuh menjadi molekul karbon yang lebih sederhana. Proses degradasi ini merupakan kerja reaksi enzimatik dalam bentuk fermentasi yang melibatkan enzim spesifik yang diproduksi oleh mikroorganisme.

3.3 Hidrokarbon Aromatik

Senyawa aromatik adalah senyawa organik yang tersusun atas susunan atom karbon dan hidrogen membentuk struktur siklik atau cincin dengan elektron π yang terdelokalisasi dalam molekul cincin. Nama hidrokarbon aromatik disesuaikan dengan sifat khas senyawa tersebut yakni menghasilkan aroma yang menyenangkan. Hidrokarbon aromatik pada dasarnya struktur siklik sekaligus membentuk struktur planar. Perbedaan utama antara hidrokarbon alifatik dan aromatik adalah bahwa hidrokarbon alifatik memiliki rasio atom karbon dan atom hidrogen yang tinggi sedangkan hidrokarbon aromatik memiliki rasio antara atom karbon dan hidrogen yang rendah. Senyawa aromatik jauh lebih stabil dibandingkan dengan senyawa karbon alifatik, dimana kestabilan senyawa aromatik dihasilkan dari pengaruh resonansi. Ini berarti, senyawa aromatik sering direpresentasikan sebagai struktur resonansi yang mengandung ikatan tunggal dan ganda oleh adanya elektron π , dimana elektron π dapat terdelokalisasi dan menyebar merata pada atom C yang membentuk cincin.

Umumnya, senyawa aromatik bersifat nonpolar, sehingga tidak dapat bercampur dengan air yang bersifat polar. Rasio antara karbon dengan hidrogen kecil dalam senyawa aromatik, akibat elektron π dan adanya ikatan sigma atom karbon-hidrogen, sehingga sebagian besar senyawa aromatik mengalami reaksi substitusi elektrofilik. Karena adanya elektron π yang terdelokalisasi, cincin aromatik pada senyawa aromatik kaya dengan elektron, sehingga memungkinkan elektrofil dapat menyerang cincin, akibatnya elektron π tersebar ke atom karbon lainnya dalam cincin. Proses ini dapat berjalan terus hingga senyawa aromatik mengalami perubahan menjadi senyawa siklik jenuh.

Sebagian besar senyawa hidrokarbon aromatik diperoleh dari minyak petroleum. Hidrokarbon polyaromatik (PAH) dianggap sebagai pencemar lingkungan dan masuk dalam kategori zat karsinogen atau zat

yang dapat memicu terbentuknya sel-sel kanker, sehingga limbah PAH dikategorikan sebagai material Bahan Berbahaya dan Beracun. Sifat khas senyawa karbon aromatik adalah: 1) aromatik hidrokarbon memiliki bau yang menyengat, mudah terbakar dengan api, tidak jenuh, memiliki electron π terdelokalisasi dalam cincin aromatik. Senyawa aromatik yang paling sederhana ialah benzena yang memiliki formula kimia C_6H_6 , meskipun diketahui bahwa senyawa aromatik mudah terbakar, mudah menguap, merupakan produk sampingan dari destilasi batubara. Efek karsinogenik senyawa aromatik yakni menyerang system syaraf hingga kerusakan sistem saraf pusat yang akut dan juga menyebabkan kerusakan sumsum tulang secara kronis, namun senyawa-senyawa tersebut merupakan bahan industri yang penting khususnya pada cat, pernis, thinner, bensin, sehingga penggunaannya sulit dihindari.

Benzena memiliki nama lain, seperti Benzol; Benzole; Cyclohexatriene; Pyrobenzole; Benzine adalah salah satu contoh senyawa aromatik dengan kestabilan tinggi, memiliki massa molekul 78.114 g/mol. Kestabilan benzena diakibatkan oleh kemampuan delokalisasi elektron- π akibat adanya orbital P yang tegak lurus pada bidang cincin, sehingga energi resonansi senyawa aromatik tersebut merupakan salah satu faktor atas kestabilan tersebut. Delokalisasi elektron ini terjadi pada ikatan rangkap yang terus berpindah pindah dan akhirnya di simbolkan dengan cincin.

3.4 Pencemaran Minyak Bumi

Minyak bumi merupakan sumber energi utama yang digunakan baik pada rumah tangga, industri maupun transportasi. Akibat penggunaan minyak bumi ini menyebabkan meningkatnya kegiatan eksplorasi, eksploitasi, pengelolaan dan transportasi produksi minyak bumi untuk memenuhi kebutuhan manusia sehingga semakin tinggi pula potensi untuk mencemari lingkungan, terutama di wilayah pesisir, (PP RI, Nomor: 18 Tahun 1999). Limbah Sludge Minyak Bumi (SMB) berpengaruh pada ekosistem pesisir baik terumbu karang, mangrove maupun biota air, baik yang bersifat *lethal* (mematikan) maupun *sublethal* (menghambat pertumbuhan, reproduksi dan proses fisiologis lainnya). Hal ini karena adanya senyawa hidrokarbon yang terkandung di dalam minyak bumi, yang memiliki komponen senyawa kompleks, termasuk di dalamnya,

fenantrena, naftalena, pirena, antrasena adalah kelompok polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH), toluene, benzena, etilbenzena serta isomer xylene masuk dalam kelompok monosiklik aromatik (BTEX), merupakan senyawa aromatik jumlah kecil dalam hidrokarbon, namun pengaruhnya besar terhadap pencemaran, perairan

Sumber pencemaran perairan laut terdiri atas limbah industri, limbah cair pemukiman (*seawage*), limbah cair perkotaan (*urban stormwater*), pelayaran (*shipping*) seperti tumpahan minyak dari kapal tanker, kegiatan pertanian, dan perikanan budidaya. Minyak bumi yang masuk ke lingkungan laut dari berbagai sumber mengalami transformasi dalam laut melibatkan proses fisika, kimia, dan biologi, seperti: 1) penyebaran (*Spreading*); 2) penguapan (*evaporasi*); 3) pelarutan; 4) emulsifikasi; 5) degradasi mikroba; 6) sedimentasi.

Pencemaran minyak bumi di laut berasal dari : 1) ladang minyak bawah laut; 2) operasi kapal tanker; 3) *docking* (perbaikan/perawatan kapal); 4) terminal bongkar muat tengah laut; 5) tangki *Ballast* dan Tangki bahan bakar; 6) *scrapping* kapal (pemotongan badan kapal untuk menjadi besi tua); 7) kecelakaan tanker (kebocoran lambung, kandas, ledakan, kebakaran dan tabrakan); 8) sumber di darat (minyak pelumas bekas, atau cairan yang mengandung hidrokarbon (perkantoran & industri); 9) tempat pembersihan dari limbah pembuangan (*refinery*). Sumber bahan buangan minyak di lingkungan laut dan presentase input pertahun dapat dilihat pada Tabel 3.1 berikut:

Tabel 3.1 Presentase Input Bahan Buangan Minyak Pertahun

Sumber	Metrik ton/tahun	Prosentase input/tahun (%)
Transportasi	1.47	45.30
Buangan Industri	1.18	36.30
Atmosfir	0.30	9.20
Alam	0.24	7.70
Produksi Laut Lepas	0.05	1.50
Total	3.24	100

Sesuai Tabel 3.1, menunjukkan sumber-sumber buangan minyak yang telah diestimasi atau diperkirakan dan besarnya input minyak ke lingkungan laut. Kesemuanya itu berangkat dari asumsi bahwa semua buangan minyak pada berbagai titik di dunia berakhir di samudera. Secara

teoritis, tumpahan minyak memang tidak selamanya berasal dari kecelakaan kapal seperti karam, tabrakan, atau tenggelam. Tumpahan minyak yang mencemari laut juga dapat terjadi karena kesengajaan, misalnya air *ballast* atau air bercampur minyak dari sisa pencucian kapal tanker, atau limbah minyak ini berasal dari *tar ball* (kerak minyak mentah) yang dibuang oleh kapal yang melintas, tetapi tidak menutup kemungkinan pula berasal dari pertambangan minyak di lepas pantai,

3.4.1 Jenis Hidrokarbon dalam Lingkungan Laut

Minyak bumi sebagian besar terdiri atas senyawa hidrokarbon. Secara garis besar, senyawa hidrokarbon pada minyak bumi yang didegradasi oleh mikroorganisme dapat digolongkan atas tiga kelompok, yaitu hidrokarbon parafin, naftena dan aromatik. Unsur Hidrokarbon secara kuantitatif sangat penting dari petroleum. Hidrokarbon dapat diklasifikasikan dalam tiga bagian besar, yaitu: hidrokarbon Alifatik, jika ada hanya satu jenis antara semua struktur atom karbon, molekul tersebut menjadi sama. Senyawa aliphatik diketahui sama dengan parafin atau alkana. Hidrokarbon Alisiklik/ naftinik, hampir sama dengan semua atom karbon dalam satu rangkaian struktur ditemukan dalam bentuk siklik. Hidrokarbon Aromatik adalah hidrokarbon yang terdiri atas minimal enam rangkaian karbon dalam struktur molekulnya, membentuk cincin semisal C_6H_6 atau biasa dikenal dengan benzena.

Jenis minyak perlu diperhatikan, sebab minyak mengandung ribuan komponen kimia yang berbeda, yang daya larutnya dan daya racunnya juga berbeda. Komponen aromatik cenderung lebih beracun dibanding komponen lainnya. Ada tiga jenis hidrokarbon yang mencemari laut, yakni: 1) Hidrokarbon aromatik, mempunyai setidaknya satu cincin aromatik; 2) hidrokarbon jenuh, juga disebut alkana, yang tidak memiliki ikatan rangkap dan senyawa aromatik; 3) hidrokarbon tak jenuh, yang memiliki satu atau lebih ikatan rangkap antara atom-atom karbon, yang dibagi menjadi: alkena dan alkuna. Hidrokarbon kebanyakan ditemukan pada suhu moderat, dari 107 °C sampai 177 °C.

Komposisi kimia kandungan senyawa hidrokarbon dalam minyak bumi berbed-beda. Rata-rata komposisi dasar minyak bumi adalah karbon (C) 83-87%, hidrogen (H) 11-14%, sulfur (S) 0.01-8%, oksigen (O) 0-2%, nitrogen (N) 0.01-1.7% dan logam 0-0.1%.

Kontaminasi senyawa karbon dalam laut sangat mungkin terjadi mengingat laut Indonesia sangat luas, bahkan jauh lebih luas dari daratan. Merujuk pada data *United Nations Conference On The Law Of The Sea* (UNCLOS II) tahun 1960, laut Indonesia mencapai 3.544.743,9 km², lebih luas dari luas daratan Indonesia yang hanya mencapai 1.910.931,32 Km² (Kemendagri, Mei 2010). Fakta ini menunjukkan bahwa bangsa Indonesia harus bangga memiliki wilayah laut yang luas dengan kekayaan alam laut yang ada didalamnya sangat bantak dan beranekaragam, namun usaha dan upaya dalam merawat kebersihannya harus dilakukan agar dapat memberi manfaat kesejahteraan sebesar-besarnya pada bangsa, Negara dan seluruh rakyat serta bertanggungjawab terhadap semua yang berkaitan dengan laut, pesisir dan seluruh jenis biota yang terkandung di dalamnya. Namun sayangnya, selama bertahun-tahun laut pun telah menjelma dan menjadi obyek dan area pencemaran. Pencemaran terjadi akibat masuknya bahan-bahan atau energi ke dalam lingkungan laut yang berakibat buruk terhadap biota laut, termasuk usaha perikanan, yang berakibat memburuknya kualitas air laut.

Jika dilihat berdasarkan PP Nomor 19/1999, pencemaran laut diartikan sebagai masuknya/dimasukkannya makhluk hidup, zat, energi, dan/atau komponen lain ke dalam lingkungan laut oleh kegiatan manusia, sehingga kualitas laut turun sampai ke tingkat tertentu yang menyebabkan lingkungan laut tidak sesuai lagi dengan baku mutu dan/atau fungsinya. Pencemaran laut erat kaitannya dengan aktivitas manusia yang disertai dengan kemajuan teknologi. Salah satu sumber pencemaran laut adalah aktivitas pengeboran minyak di lepas pantai atau yang disebut dengan *offshore*. Di Indonesia perusahaan minyak yang memiliki dan mengoperasikan pengeboran minyak lepas pantai; diantaranya: Conoco Philips, CNOOC, Chevron, Pertamina dan Medco. Kejadian tumpahan minyak ke laut (*oil spill*) terjadi pada saat terjadi pelepasan cairan minyak hidrokarbon ke dalam lingkungan laut. Tumpahan ini dapat berasal dari *docking* (perbaikan/perawatan kapal), *tank cleaning* (pembersihan tanki minyak), *scrapping* kapal (pemotongan badan kapal untuk menjadi besi tua), kecelakaan tanker (kebocoran lambung, kandas, ledakan, kebakaran dan tabrakan), atau *illegal bilge* yaitu saluran buangan air, minyak dan pelumas hasil proses mesin yang merupakan limbah ke laut.

Limbah buangan minyak lepas pantai umumnya berasal dari hasil eksplorasi produksi minyak, pemeliharaan fasilitas produksi, fasilitas penyimpanan, pemrosesan dan tanki penyimpanan minyak pada kapal laut. Salah satu kejadian spektakuler mengenai cemaran laut oleh tumpahan minyak terjadi saat supertanker Exxon Valdez menabrak karang di Teluk Prince William, lepas pantai Alaska pada 24 maret 1989. Akibatnya sekitar 11 juta galon minyak mencemari laut yang berakibat buruk pada biota laut, tanpa kecuali paus orca. Limbah minyak sendiri berasal dari minyak mentah (*crude oil*) yang memiliki ribuan konstituen pembentuk yang secara struktur kimia terdiri dari lima famili, yaitu: *saturated hydrocarbons*, *aromatics*, *asphalten* dan *resin*, *porphyrine*, dan komponen non-hidrokarbon. Sifat limbah hidrokarbon yang berupa bahan beracun berbahaya dan beracun (B3), limbah minyak dalam suatu konsentrasi tertentu dan jumlahnya dapat menjadi bahan pencemar dan membahayakan lingkungan hidup. Limbah minyak dapat menyebabkan infeksi dan keracunan bagi manusia. Bagi lingkungan bahan ini dapat menimbulkan korosif, sangat mudah terbakar dan bahkan sangat mudah meledak. *Offshore* atau pengeboran minyak lepas pantai juga sering “menyumbang” cemaran minyak mentah ke laut. *Oil spill* pada upaya *offshore* atau platform banyak menjadi penyebab terjadinya ledakan (*blowout*) yaitu pada saat fluida di sumur mengalami kondisi *out of control*. Fluida tersebut menyembur keluar dari sumur bor pada saat dilakukannya proses pengeboran (*drilling*)

3.4.2 Limbah Sludge Minyak Bumi (SMB)

Lumpur minyak bumi (*oil sludge*) berasal dari aktivitas-aktivitas yang berkaitan dengan eksploitasi dan pengolahan minyak bumi, seperti *pads* ladang minyak (eksploitasi), kapal tanker (transportasi), tangki penyimpanan (*storage*) dan penyulingan (*refinery*). Pada dasarnya, lumpur minyak bumi terbentuk oleh campuran antara minyak, air dan padatan yang membentuk sistem koloid. Limbah padat yang dihasilkan disebut *oil sludge*. Dimana minyak hasil penyulingan (*refines*) dari minyak mentah biasanya disimpan dalam tangki penyimpanan. Reaksi oksidasi adalah proses yang terjadi akibat kontak antara minyak, udara dan air menimbulkan adanya sedimentasi pada dasar tangki penyimpanan, endapan ini disebut *oil sludge*. *Oil sludge* terdiri atas, minyak

(hidrokarbon), air, abu, karat tangki, pasir, dan bahan kimia lainnya. Kandungan dari hidrokarbon antara lain benzena, toluena, etilbenzena, xilena, dan logam berat seperti timbal (Pb). *Sludge oil* adalah produk samping lumpur minyak bumi mengandung senyawa berbahaya seperti PAH. *Sludge* berdasarkan sumbernya, yakni :

1. *Primary sludge*, yaitu limbah yang berasal dari tangka sedimen pada pemisahan awal, mengandung biomassa organik stabil dan mudah menguap,
2. *Chemical sludge*, yaitu limbah dihasilkan dari proses koagulasi dan flokulasi,
3. *Excess activated sludge*, yaitu limbah berasal dari pengolahan lumpur aktif sehingga banyak mengandung padatan lumpur dan hasil dari proses tersebut,
4. *Digested sludge*, yaitu limbah berasal dari pengolahan biologi dengan degested aerobik maupun anaerobik dengan padatan lumpur yang dihasilkan cukup stabil dan banyak merupakan padatan organik.

Karakteristik limbah *sludge* minyak bumi berdasarkan beberapa parameter fisika, yaitu 1. *Total solide residu* (TSR), *fixed residu* (FR), *volatile solide residu* (VSR) dan *sludge moisture contend* (SMC). Kandungan senyawa PAH yang paling besar dalam limbah minyak adalah *pyren* dan *phenanthren*. PAH merupakan senyawa hidrokarbon kategori B3, yakni bahan berbahaya dan beracun. Sifat PAH sebagai B3 dapat berupa *toxicity* tinggi, *flammability*, *reactivity*, *corossivity* dan *concentration* tinggi. Konsentrasinya mencapai 222 mg/kg dalam limbah yang dihasilkan. *Oil Sludge* memiliki karakteristik tertentu sehingga untuk proses bioremediasi perlu dicampur dengan tanah, sekaligus dapat meningkatkan porositas untuk memudahkan mikroba masuk kedalam struktur dalam limbah SMB. Pencampuran limbah SMB dengan tanah bertujuan untuk meningkatkan porositas bahan sehingga pertukaran oksigen dapat berlangsung lebih baik. Kebutuhan oksigen untuk biodegradasi minyak bumi setiap 1 mg oksigen dapat mendegradasi 3,5 mg minyak bumi.

Contoh nyata pencemaran minyak bumi adalah pada fenomena ledakan yang luar biasa pernah terjadi di Deepwater Horizon Mocondo 252 Teluk Meksiko pada tanggal 20 April 2010, hingga menyebabkan

platform tenggelam ke dasar laut. Pemerintah AS memperkirakan total tumpahan minyak mencapai volume 4,9 juta barel. Demikian pula telah dilaporkan hingga tahun 2012, masih terjadi kebocoran minyak di sumur pemboran. Bisa dibayangkan berapa besar kerusakan habitat laut dan kerugian berbagai sektor ekonomi akibat dampak buruk teknologi tersebut. *Oil spill* pada *offshore* juga sering terjadi bila terjadi kebocoran di saat *production tubing*, yaitu saat dilakukannya perpindahan cairan dari *producing formation* ke *christmas tree/wellhead*.

Resiko ini juga meningkat sejalan dengan turunnya harga minyak dunia. Penghematan yang dilakukan oleh perusahaan minyak untuk komponen pemeliharaan katup (*valve maintenance*) yang mahal, kerap dilakukan oleh perusahaan untuk menyiasati berbagai biaya pengeluaran saat harga minyak jatuh. Mengantisipasi dampak buruk pencemaran minyak di laut akibat terjadinya *oil spill*, secara internasional negara-negara di dunia mengadakan konvensi internasional yang selanjutnya diturunkan dalam aturan di tiap negara. Diantaranya, disepakati aturan-aturan tentang pencemaran laut dalam konvensi PBB 1958 tentang Laut Lepas yang memasukkan dua ketentuan terkait pencemaran laut, aturan lain relevan adalah Konvensi Hukum Laut 1982. Dalam hukum nasional, aturan terkait ini dituangkan dalam UU Nomor 23/1997 tentang Pengelolaan Lingkungan Hidup dan UU Nomor 17/2008 tentang Pelayaran. Turunan UU diatas, diantaranya adalah Peraturan Pemerintah (PP) Nomor 19/1999 tentang Pengendalian Pencemaran dan atau Perusakan Laut, Peraturan Presiden Nomor 109/2006 tentang Penanggulangan Keadaan Darurat Tumpahan Minyak di Laut. Juga Peraturan Pemerintah RI Nomor 20/1990 tentang Pengendalian Pencemaran Air. Tujuan dari adanya berbagai UU dan aturan ini ditujukan agar para pemangku kepentingan, secara khusus perusahaan migas dapat terus-menerus mengembangkan kemampuan *Health, Safety and Environment* (HSE). Banyak teknik yang dapat dijalankan untuk meminimalisir dampak cecaran dan tumpahan minyak, seperti *oil booms*, *in-situ burning*, *skimmer*, bioremediasi (agen biologis penghapus minyak), mekanisme adsorpsi, dispersan kimiawi, atau dengan memecah lapisan minyak dengan *boat* kecepatan tinggi. Perusahaan minyak lepas pantai, khususnya di Indonesia peduli dengan kelestarian laut dan keselamatan

biotanya. Daya tahan, kelarutan dan toksisitas beberapa polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) berbeda-beda, disajikan dalam Tabel 2.3, berikut:

Tabel 3.2 Daya Tahan, Struktur, Kelarutan dan Sifat Toksit Beberapa Jenis Polisiklik Aromatik Hidrokarbon (PAH)

Jenis PAH	Rumus Kimia	BME (g/mol)	Jumlah Cincin	Titik didih	Kelarutan dalam Air (mg/L)	Toksitas	Struktur
Naphtalena	$C_{10}H_8$	128,2	2	218 °C; 474 °F; 491 K	31,700	Toksik	
Acenaphthelena	$C_{12}H_8$	152,2	2	280 °C; 536 °F; 553 K	3,900	Mutagenik	
Acenaphthena	$C_{12}H_{10}$	154,2	2	279 °C; 534 °F; 552 K	4,000	Mutagenik	
Fluorena	$C_{12}H_{10}$	170,0	3	295 °C; 563 °F; 568 K	3,400	Muta-genik	
Anthracena	$C_{14}H_{10}$	178,2	3	339,9 °C; 643,6 °F; 613,0 K	0,070	Toksik	
Phenanthrena	$C_{14}H_{10}$	178,2	3	332 °C; 630 °F; 605 K	1,300	Toksik	
Fluorantena	$C_{16}H_{10}$	202,2	4	375 °C; 707 °F; 648 K	0,260	Karsino-genik lemah	
Pirena	$C_{16}H_{10}$	202,2	4	404 °C; 759 °F; 677 K	0,140	Mutagenik	
Benzo(a)antracena	$C_{18}H_{12}$	228,3	4	438 °C; 820 °F; 711 K	0,002	Mutagenik; Karsinogenik	
Chrysena	$C_{18}H_{12}$	228,3	4	446 °C; 836 °F; 721 K	Tak larut	Mutagenik; Karsinogenik	
Benzo(b)fluorantena	$C_{18}H_{12}$	252,3	5	381 °C; 713 °F; 654 K		Mutagenik; Karsinogenik	
Benzo(k)fluorantena	$C_{18}H_{12}$	252,3	5	385 °C; 717 °F; 658 K		Karsinogenik lemah	
Benzo(a)pirena	$C_{18}H_{12}$	276,3	5	495 °C; 923 °F; 768 K	0,025	Muta-genik; Karsino-genik	
Dibenz(a,h)antracena	$C_{18}H_{12}$	276,4	5	442 °C; 825 °F; 714 K		Karsinogenik	
Benzo(g,h,i)perilena	$C_{18}H_{12}$	302,4	6	500 °C; 932 °F; 773 K	0,025	Mutagenik; Karsinogenik	

3.4.3 Dampak dari Pencemaran Minyak Bumi

Akibat buruk yang segera terlihat akibat pencemaran minyak bumi adalah rusaknya estetika pantai akibat penampakan dan bau dari material

minyak. Residu yang berwarna gelap yang terdampar di pantai akan menutupi batuan, pasir, tumbuhan dan hewan. Gumpalan tar yang terbentuk dalam proses peruraian minyak akan hanyut dan terdampar di pantai. Tumpahan minyak akan mengakibatkan kerusakan biologis, bisa merupakan efek *letal* dan efek *subletal*. Efek *letal* yaitu reaksi yang terjadi terhadap zat mengalami perubahan secara fisika dan kimia akan mengganggu proses sel ataupun subsel pada makhluk hidup hingga kemungkinan terjadinya kematian. Efek *subletal* yaitu mempengaruhi kerusakan fisiologis dan perilaku namun tidak mengakibatkan kematian secara langsung. Namun kematian dimungkinkan akibat terganggunya proses makan, pertumbuhan dan perilaku tidak normal.

Pertumbuhan bakteri laut terhambat akibat keberadaan senyawa toksik dalam komponen minyak bumi, sebaliknya ditemukan pula proses terjadinya penambahan mikroorganisme yang mampu memanfaatkan hidrokarbon minyak bumi, disebabkan karena terjadi penambahan nutrisi pada lokasi yang tercemar untuk metabolismenya. Polusi minyak dari eksplorasi gas atau minyak, mengakibatkan kerusakan mangrove yang fatal. Ada 2 bentuk kerusakan yang umum terjadi pada mangrove akibat polusi minyak, yaitu: 1) apabila tumpahan minyak dalam kuantitas yang besar, umumnya pohon-pohon mangrove mengalami devoliasi dalam kurun waktu 1-2 bulan yang selanjutnya diikuti dengan kematian; 2). apabila deposit minyak dalam sedimen relatif rendah umumnya terjadi pengaruh sub-letal terhadap mangrove, seperti devoliasi sebagian dan terbukanya kanopi, menyebabkan penurunan daya tahan mangrove. Gangguan yang hebat terhadap hampir semua jenis material dalam laut, terutama bahan yang mengalami pertumbuhan utamanya biota laut ikan, spons, moluska dan jenis biota lainnya. Pada bagian permukaan laut juga mengalami gangguan fotosintesis laut tidak berjalan maksimal akibat penutupan permukaan laut oleh limbah minyak yang menyebabkan sinar matahari tidak dapat menembus ke dalam badan air. Dengan demikian penanganan dan penanggulangan terhadap pencemaran minyak bumi harus dilakukan dan menjadi tanggungjawab semua pihak mengingat dampaknya yang luar biasa terhadap siklus kehidupan alam laut hingga secara luas, berdampak pada kehidupan manusia.

3.4.4 Metode Penanggulangan Pencemaran Minyak Bumi

Beberapa metode penanggulangan pencemaran minyak bumi dalam lingkungan laut yang dapat diterapkan seperti metode fisika, kimia dan biologi termasuk yang saat ini banyak dilakukan adalah metode bioteknologi. Setiap metode yang ada memiliki tujuan yang spesifik sesuai dengan kebutuhan dan peruntukannya, termasuk kelemahan dari setiap metode tersebut. Metode fisika dilakukan hanya untuk tujuan memperlambat sebaran tumpahan minyak bumi dan proses degradasi tumpahan minyak tersebut karena adanya penyinaran sinar matahari dan agitasi oleh gelombang laut. Metode ini dapat dilakukan dalam skala yang luas namun proses degradasi terhadap tumpahan minyak bumi berjalan sangat lambat, akibatnya memiliki potensi daya rusak tinggi pada biota laut. Metode kimia dengan penambahan bahan kimia tertentu dalam badang limbah minyak, dalam hal waktu reduksi sifat racun atau penurunan daya racun dapat berlangsung dalam waktu lebih cepat, namun biaya yang dibutuhkan cukup besar dan tidak dapat dilakukan dalam skala besar, demikian pula hasil yang di peroleh tetap tidak mengurangi daya racun dari limbah minyak secara signifikan. Metode biologi juga dapat dilakukan namun dalam skala kecil dan dalam area yang terisolasi, sehingga cara ini kurang tepat untuk menangani tumpahan minyak yang sangat besar. Metode bioteknologi cukup berhasil guna dalam penerapannya karena zat hasil degradasi adalah komponen senyawa organik yang sederhana, namun demikian hanya dapat dilakukan dalam skala kecil.

Sumber kerusakan lingkungan yang mengancam kelestarian sumberdaya pesisir dan lautan di Indonesia yaitu: pencemaran, degradasi fisik habitat, over eksploitasi sumber daya alam, abrasi pantai, konservasi kawasan lindung menjadi peruntukan pembangunan lainnya dan bencana alam. Minyak bumi yang masuk ke lingkungan laut dari berbagai sumber mengalami transformasi dalam laut dengan melibatkan proses fisika, kimia, dan biologi seperti berikut:

1. Penyebaran (*Spreading*), minyak bumi dan produk destilatnya yang terbuang ke laut menyebar dengan cepat yang dipengaruhi oleh angin, gelombang dan arus.

2. Penguapan (*evaporasi*), merupakan proses fisika dimana proses tergantung titik didih dan berat molekul minyak bumi yang masuk ke laut.
3. Pelarutan, erat hubungannya dengan komposisi, struktur, dan berat molekul senyawa.
4. Emulsifikasi, adalah proses dimana minyak tersuspensi ke dalam air yang disebabkan oleh banyaknya komponen minyak bumi tidak dapat larut.
5. Degradasi mikroba, merupakan proses alami yang sangat penting bagi penguraian minyak bumi oleh mikroorganisme setelah mengalami proses fisika dan kimia.
6. Sedimentasi yaitu minyak bumi mengalami sedimentasi yang memerlukan kerapatan yang cukup untuk mengendap membentuk sedimen

Metode penanggulangan pencemaran minyak bumi dalam lingkungan laut akibat pencemaran limbah dalam lingkungan laut mengakibatkan kerusakan lingkungan yang mengancam kelestarian sumberdaya pesisir dan biota serta perairan laut di Indonesia yaitu: pencemaran, degradasi fisik habitat, over eksploitasi sumber daya alam, abrasi pantai, konservasi kawasan lindung menjadi peruntukan pembangunan lainnya dan bencana alam. Minyak bumi yang masuk ke lingkungan laut dari berbagai sumber mengalami transformasi dalam laut dengan melibatkan proses fisika, kimia, dan biologi

Wilayah Indonesia yang sering mengalami dampak dari pencemaran limbah minyak bumi adalah warga di pesisir kota Balikpapan, Kalimantan Timur, sebagaimana adanya pengakuan warga tentang terdampak akibat terbakarnya tumpahan minyak yang dilaporkan telah menyebar lebih dari lima kilometer di perairan Teluk Balikpapan. Keluhan yang disampaikan oleh warga sekitar pesisir adalah bau menyengat dan mengaku khawatir atas tumpahan minyak yang sering terjadi. Dampak dari limbah ini semakin terasa ketika terjadi air pasang, dimana sering minyak bumi tersebut yang terapung seringkali sampai di sekitar rumahnya dan terdampar dipantai bahkan saat air pasang, banyak minyak, yang menempel di dinding dan tiang ketika air laut surut. Masalah ini merupakan dampak langsung yang dirasakan oleh masyarakat, sedangkan

dampak lainnya terkait dengan biota laut yang dapat mengalami kematian massal dalam waktu tertentu.

Kekhawatiran seperti ini barangkali juga dirasakan oleh warga di wilayah lainnya yang berada disekitar pertambangan minyak seperti kilang Mandiri, Melawai, Klandasan Ulu, hingga Sepinggán. Di kawasan ini, terlihat tumpahan minyak dengan warna hitam pekat dengan ketebalan berbeda. Keadaan ini sering terjadi sehingga pemerintah Kota Balikpapan pernah menerapkan darurat lingkungan dan menyatakan keadaan darurat atas kasus ini, dan mereka terus berupaya membersihkan minyak dan melokalisirnya agar tidak menyebar.

Gambar 3.1 Kondisi udara sekitar Pantai Melawai Balikpapan yang tercemar asap pembakaran limbah minyak bumi

Berikut contoh komunikasi keterlibatan masyarakat dalam menjaga lingkungan yang dikutip dari Dinas Lingkungan Hidup Kota Balikpapan Kalimantan Timur, dengan judul: *Darurat lingkungan*, untuk kawasan pesisir Balikpapan yang terkena dampak tumpahan minyak. Menurut Rahmad Mas'ud sebagai PLT Walikota, kepada wartawan, Senin. Dengan ditetapkannya darurat lingkungan, Pemerintah Provinsi Kaltim dan Pemerintah Kota Balikpapan bisa bersama-sama melakukan penanganan dan penyelidikan atas kasus ini. Rahmad Mas'ud berjanji untuk terus memimpin dan mengendalikan tumpahan minyak agar tidak menyebar, tidak melebar dan berdampak terhadap lingkungan dan rakyat Balikpapan.

Temuan tumpukan hewan laut yang terdampar di pesisir kawasan Klandasan Ulu dan diduga akibat tumpahan minyak merupakan dampak langsung dari pencemaran minyak yang lebih berat terhadap biota laut. Menunjukkan bahwa ada indikasi tidak baik untuk ekosistem. Buktinya

ada pesut yang mati. Di dalamnya sudah ada kontaminasi minyak, ungkap Kepala Dinas Lingkungan Hidup Kota Balikpapan, Suryanto, kepada wartawan Smart FM di Balikpapan, Etty Hariyani, Senin (02/04). Dia mengkhawatirkan, apabila tumpahan minyak ini tidak segera ditangani lebih cepat, merusak ekosistem di kawasan Teluk Balikpapan. Kata Suryanto, menyatakan bahwa harus cepat menangani masalah ini, biar cepat *recovery*-nya, sehingga beberapa hari kemudian ratusan personil gabungan, seperti dari Polri, TNI, dan Pertamina, terus membersihkan minyak di sejumlah titik di pinggir pantai di kawasan teluk tersebut. Mereka menggunakan gayung, menciduknya dan menampungnya dalam ember. Kegiatan ini dipimpin oleh Kabid Humas Polda Kaltim, Kombes Pol Ade Yaya, kepada BBC Indonesia, melalui sambungan telepon.

Gambar 3.2 Pemandangan Pantai Melawai Balikpapan disekitar Kilang Minyak Ulu.

Fakta di atas membuktikan bahwa limbah minyak mentah menjadi pencemar lautan paling tinggi dan separuhnya dihasilkan dari aktivitas industri, sebagian akibat kegiatan pelayaran hingga kecelakaan kapal tanker. Lautan Indonesia sebagai jalur kapal tanker internasional pun rawan tercemar limbah minyak akibat kecelakaan transportasi kapal. Meskipun demikian juga pada laut terdapat mekanisme alamiah untuk menetralkan kontaminan yang ada, namun tentunya memiliki keterbatasan jika bahan-bahan pencemar bermuarah di laut secara masif. Dalam laut kaya mikroba yang dapat mengkonsumsi karbon atau minyak untuk sumber energi yang dikenal saat ini sebagai remediasi alamiah kawasan tercemar. Limbah lumpur minyak bumi berdampak buruk pada ekosistem laut dan pesisir terutama biota yang ada di dalamnya, baik terhadap terumbu karang, mangrove maupun biota air, ikan, moluska, spons, baik

yang bersifat lethal (mematikan) maupun sublethal (menghambat pertumbuhan, reproduksi dan proses fisiologis lainnya).

Senyawa hidrokarbon yang terkandung di dalam minyak bumi, yang memiliki komponen senyawa kompleks, termasuk didalamnya Benzena, Toluena, Ethilbenzena dan isomer Xylena (BTEX), merupakan senyawa aromatik dalam jumlah kecil dalam hidrokarbon, namun pengaruhnya sangat besar terhadap pencemaran atau kualitas lingkungan terkontaminasi termasuk perairan. Cerita pada Kasus yang terjadi, minyak di Guilt of Eilat (Red Sea) telah merusak gonad *Stylophora pistillata*, menurunkan *survival rate* koloni-koloni karang dan menurunkan jumlah produksi planula sehingga menjadi ancaman besar terhadap biota laut. Kasus berikutnya adalah tumpahan minyak diesel dan minyak “Bunker C” Witwater di daerah Panama 1968, merupakan contoh buruk dan menyebabkan benih-benih *Avicennia* dan *Rhizophora* sp. serta berbagai invertebrata, penyu, burung dan alga yang hidup di daerah intertidal mangrove mati. Banyaknya kasus lain seperti tumpahan minyak bahan bakar pembangkit listrik tenaga gas uap (PLTGU) yang bersumber dari kapal tongkang pengangkut minyak, semua itu berpengaruh buruk bagi lingkungan perairan khususnya biota yang ada didalamnya, sehingga menyebabkan turunnya produktivitas sumberdaya perikanan, sehingga upaya penanggulangannya mutlak harus dilakukan.

Laut memiliki banyak material yang dapat menjalankan fungsi degradasi komponen limbah. Material tersebut misalnya mikroorganisme, terutama bakteri yang mampu mendegradasi komponen beracun yang terdapat di dalam limbah hidrokarbon minyak bumi disebut bakteri hidrokarbonoklastik. Bakteri ini mampu mendegradasi senyawa hidrokarbon dengan memanfaatkan senyawa atau komponen hidrokarbon sebagai sumber karbon dan energi yang diperlukan bagi aktivitas pertumbuhan mikroorganisme. Mikroorganisme tersebut mampu menguraikan komponen minyak bumi karena kemampuannya mengoksidasi hidrokarbon dan menjadikan hidrokarbon sebagai donor elektronnya. Mikroorganisme ini berkontribusi besar dalam penguraian tumpahan minyak dengan mengoksidasi minyak bumi menjadi gas karbon dioksida (CO_2) dan senyawa organik sederhana lainnya. Bakteri pendegradasi minyak bumi menghasilkan bioproduk seperti asam lemak,

gas, surfaktan, dan biopolimer sederhana lainnya yang dapat meningkatkan porositas dan permeabilitas batuan reservoir formasi klastik dan karbonat apabila bakteri ini menguraikan minyak bumi.

Reaksi degradasi senyawa hidrokarbon fraksi aromatik oleh bakteri yang diawali dengan pembentukan *catechol* atau senyawa yang secara struktur berkombinasi dengan senyawa lainnya. Senyawa tersebut selanjutnya didegradasi menjadi senyawa yang dapat masuk ke dalam siklus Krebs (siklus asam sitrat), yaitu suksinat, asetil KoA, dan piruvat.

Beberapa bakteri hidrokarbonoklastik yang telah diketahui mampu mendegradasi komponen hidrokarbon adalah *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Alcaligenes*, *Brevibacterium*, *Brevibacillus*, dan *Bacillus*. Bakteri-bakteri tersebut banyak tersebar di alam, termasuk dalam perairan, biasanya bersimbiosis dengan biota laut tertentu seperti spons, moluska atau juga dapat diisolasi dari air laut dan sedimen yang tercemar oleh minyak bumi atau hidrokarbon. Kita hanya perlu mengisolasi bakteri hidrokarbonoklastik tersebut dari alam dan mengkulturkannya, selanjutnya kita bisa menggunakannya sebagai material pengolah atau fungsi degradator terhadap limbah minyak bumi yang efektif dan efisien, serta ramah lingkungan. Metode degradasi apabila menggunakan material organik termasuk mikroorganisme biasa disebut bioremediasi. Metode ini dapat dilakukan dengan dua teknik, yaitu bioaugmentasi dan biostimulasi. Teknik bioaugmentasi dilakukan dengan menyebarkan mikroba tertentu yang spesifik pada area tercemar oleh limbah minyak, sedangkan teknik biostimulasi dilakukan dengan menggunakan pupuk mineral untuk menstimulus tumbuhnya mikroba di lingkungan yang tercemar, sehingga mikroba yang tumbuh tersebut memiliki komposisi DNA yang sesuai dengan lingkungan pertumbuhannya pada limbah minyak, sehingga mampu menguraikan limbah minyak menjadi senyawa organik sederhana dan tentunya lebih ramah terhadap lingkungan. Metode ini paling banyak direkomendasikan untuk menjadi pilihan dalam penanganan area tercemar limbah minyak, meskipun tidak tertutup kemungkinan menggunakan teknik bioaugmentasi atau metode lainnya yang lebih sederhana dan hasil yang efisien. Kedua teknik ini sudah sering diterapkan namun masih terbatas pada kuantitas degradasinya yakni pada skala laboratorium dan

skala medium untuk merecovery lahan-lahan pertanian atau lahan tertentu yang terkena tumpahan minyak bumi.

Saat ini fokus riset yang dapat dilakukan dengan serius adalah mencari atau melakukan penelusuran material yang sering kita sebut dengan istilah skrining untuk mendapatkan lebih banyak jenis dan variasi mikroorganisme yang mampu mendegradasi komponen hidrokarbon khususnya jenis PAH termasuk pula logam berat, lalu kumpulan mikroorganisme karbonoklastik tersebut sedapat mungkin dilakukan penyimpanan dalam bentuk sediaan kultur atau sediaan kristal yang mobile, sehingga sewaktu-waktu apabila dibutuhkan, maka dengan mudah dapat di mobilisasi pada area yang akan dipulihkan atau area yang tercemar hidrokarbon untuk dilakukan kultur dan dibuat suspensi yang harus dapat dilakukan dalam waktu cepat, meskipun formulasi ini hingga saat ini masih menjadi kendala yang belum dapat direalisasikan.

BAB 4 KARAKTERISASI MIKROSIMBION SPONS DAN APLIKASINYA DALAM METODE BIODEGRADASI

4. 1 Morfologi Spons

Lingkungan laut memiliki peran yang vital dalam kehidupan manusia, bukan hanya sebagai sarana transportasi, lebih dari itu laut merupakan tempat hidup berbagai jenis biota dan tersedia serta seluruhnya dibutuhkan untuk menjamin kelangsungan hidup makhluk termasuk manusia. Banyaknya temuan deposit bahan tambang mineral, minyak bumi dan gas di laut menambah vital keberadaan laut terhadap kehidupan manusia. Eksplorasi dan eksploitasi material tambang di laut memberi potensi terjadinya cemaran hidrokarbon limbah minyak bumi, logam berat dan mineral lainnya dapat terjadi hampir pada semua lini aktivitas perminyakan/pertambangan mulai dari eksplorasi sampai ke proses pengilangan atau dari hulu ke hilir dan berpotensi menghasilkan limbah berupa lumpur minyak bumi (*oil sludge*) yang mengandung komponen hidrokarbon beracun dan logam berat dengan toksisitas tinggi. Komponen utama kontaminan *sludge* minyak bumi adalah senyawa hidrokarbon alifatik dan aromatik bersifat hidrofobik, sehingga mudah menempel pada bahan organik dari partikel padat membentuk mikropolutan yang persisten di lingkungan.

Hasil studi tentang potensi spons, teridentifikasi tiga kemanfaatan yang dimiliki, yakni: *pertama*, biomassa spons potensial untuk mereduksi sifat toksik beberapa jenis hidrokarbon dan sebagai media tumbuhnya mikroorganisme tertentu yang memiliki aktifitas anti bakteri; *kedua*, spons mengandung komponen metabolik primer dan sekunder yang diperkirakan mengandung komponen kimia tertentu potensial sebagai bahan baku obat dan kosmetik, dan; *ketiga*, spons dapat bersimbion dengan beberapa jenis mikroorganisme potensial sebagai bakteri pendegradasi zat karsinogenik limbah aromatik hidrokarbon dan juga sebagai bioabsorben beberapa jenis logam berat dalam limbah, bahkan dapat dikembangkan lebih lanjut untuk membuat formulasi bakteri karbonoklastik-bioabsorpsi sebagai biomaterial dan zat aditif pada beton.

Eksplorasi kemanfaatan spons sebagai kekayaan alam laut Indonesia harus dilakukan secara luas, lengkap dan terstruktur oleh para saintis Indonesia, dapat diwujudkan apabila dengan berkolaborasi dengan beberapa pihak yang memiliki kompetensi, kapasitas, sarana, prasarana dan kemampuan, agar diperoleh hasil signifikan. Permasalahan yang diangkat dalam ulasan ini adalah: Skrining beberapa jenis spons, biomassa dan mikroorganisme simbiosis yang memiliki fungsi degradasi komponen aromatik hidrokarbon dalam limbah toksik dan karsinogenik serta mutagenik. Studi ini memberi dampak positif pada tiga aspek pembangunan, yakni: penganeekaragaman fungsi kekayaan alam laut khususnya spons; penanggulangan limbah hidrokarbon aromatik, penyelamatan sekaligus pembangunan lingkungan hijau. Komponen Polisiklik Aromatik Hidrokarbon (PAH) sebagai zat beracun dapat merusak biota laut dan bahkan melalui siklus ekologi, berpotensi mengganggu kesehatan manusia karena memiliki efek karsinogenik dan mutagenik. Tanggungjawab manusia dalam mempertahankan kualitas lingkungan laut dilakukan dengan mengendalikan pencemaran limbah minyak bumi baik secara fisika, kimia maupun biologi telah dilakukan secara berkelanjutan namun hasilnya kurang signifikan dalam mengurangi tingkat pencemaran. Salah satu usaha penanggulangan lingkungan tercemar limbah minyak bumi yang dianggap dapat mengatasi masalah pencemaran PAH dan logam berat adalah penggunaan mikroorganisme yang dapat mendegradasi komponen toksik senyawa hidrokarbon PAH. Salah satu mikroorganisme yang dapat mendegradasi hidrokarbon khususnya PAH berat molekul rendah dan tinggi adalah bakteri, dimana mikroorganisme tersebut beberapa jenis diantaranya telah diidentifikasi dapat bersimbiosis mutualisma dengan spons laut.

Pemanfaatan fungsi spons dan material-material penyusun dan yang bersimbiosis dengan spons (biomassa, bioaktif primer, sekunder, mikrosimbiosis) untuk kepentingan berbagai bidang kehidupan manusia termasuk dalam pengembangan ilmu dan teknologi oleh para periset perlu dilakukan secara masif dan berkesinambungan, mengingat bahwa potensi spons Indonesia serta sebarannya cukup besar yang mencapai 55 % dari potensi spons dunia dengan 83.000 spesies yang telah diidentifikasi dari

150.000 spesies spons dunia. Eksplorasi spons dewasa ini khususnya di Indonesia masih dalam tahap identifikasi dan karakterisasi serta isolasi senyawa bioaktif/metabolik sekunder untuk pengembangan awal ilmu pengetahuan dan kepentingan temuan awal dalam kefarmasian. Aktivitas ini masih dilakukan dalam jumlah yang terbatas pada lembaga pendidikan tinggi dan sebagainya kecil pada lembaga riset lainnya. Temuan riset tentang spons dan zat aktif yang terkandung didalamnya termasuk mikrosimbion spons yang belakangan diketahui dapat berperilaku sebagai produsen zat menyerupai enzim dalam kemampuan menggunakan karbon sebagai nutrisi untuk mendapatkan energi, sehingga sangat cocok untuk dikaji lebih jauh pada aplikasi dalam metode degradasi hidrokarbon khususnya jenis PAH yang memiliki sifat karsinogenik. Hipotesis ini belum banyak diungkap oleh para periset dunia, Khususnya di Indonesia masih terbatas karena ketiadaan sarana dan prasarana riset yang memadai, sedangkan periset dunia terbatas pada ketiadaan bahan spons spesifik sebagai objek penelitian. Kenyataan ini merujuk dan mengarahkan kita untuk dapat melakukan riset dengan model kolaborasi periset dunia.

Sebaran spons Indonesia yang sangat luas dan melimpah, potensial untuk dilakukan rekayasa sebagai laboratorium riset kelas dunia, dimana spons berada dan tersebar pada beberapa wilayah Indonesia, seperti Kepulauan Seribu Jakarta, Kepulauan Spermonde Sulawesi Selatan, Kawasan Bunaken Sulawesi Utara, kawasan Raja Ampat Papua dan banyak lagi wilayah lainnya. Eksplorasi kemanfaatan spons sebagai salah satu kekayaan alam laut Indonesia harus dilakukan secara luas, lengkap dan terstruktur oleh para saintis Indonesia, dapat dilakukan dengan berkolaborasi dengan beberapa pihak yang memiliki kompetensi, kapasitas, sarana, prasarana dan kemampuan skill dan pendidikan, agar diperoleh hasil signifikan. Permasalahan yang diangkat dalam penelitian ini fokus dan khusus pada potensi pemanfaatan mikrosimbion spons dalam mengatasi permasalahan komponen karsinogenik PAH, dimana PAH ini senantiasa ditemukan sebagai limbah terkandung dalam lumpur minyak bumi (sludge).

Jenis bahan berbahaya tersebut adalah kandungan PAH dalam sludge sebagai zat bersifat karsinogenik (pemicu aktifnya sel kanker dalam tubuh) dan zat mutagenik (pemicu terjadinya mutase genetik

sebagai bentuk respon tubuh). Bahan berbahaya lainnya penyusun sludge minyak bumi adalah kandungan beberapa macam logam berat meskipun jumlahnya sangat kecil tetapi kemampuan dalam akumulasi dan tidak terdegradasi. Sifat toksik logam berat tersebut dan kandungan PAH menjadikan sludge dalam pengolahannya memerlukan perlakuan khusus. Riset ini menawarkan salah satu metode dalam penanganan limbah mengandung PAH dan pengembangan riset untuk aplikasi reduksi logam berat menggunakan bahan alam hayati laut, yakni mikrosimbion spons, yang harapannya akan melahirkan metode pengelolaan limbah berbahaya yang lebih efisien dan sederhana dalam aplikasinya

Potensi spons laut Indonesia yang sangat besar dibandingkan potensi spons dunia yang mencapai lebih dari 150 ribu jenis. Spons adalah salah satu biota yang menjadi kekayaan alam yang harus dilestarikan agar tetap menjadi bagian dari ekosistem laut untuk memastikan keseimbangan kehidupan laut. Eksplorasi spons sampai sekarang baru pada tahap identifikasi, yakni penentuan morfologi dan spesies spons yang diperkirakan masih sangat terbatas dibandingkan dengan seluruh spons Indonesia. Beberapa jenis bakteri laut diketahui dapat mendegradasi komponen hidrokarbon aromatik yang memiliki toksisitas tinggi dengan memanfaatkan komponen PAH sebagai sumber karbon dan energy dengan jenis bakteri yang dominan sebagai pereduksi ataupun pendegradasi hidrokarbon, adalah jesis *Enterobacter* sp., *Bacillus* sp., *Clostridium* sp., *Pseudomonas* sp., *Aeromonas* sp dan *Citrobacter* sp. Kelompok bakteri *Bacillus* yang mendegradasi komponen senyawa aromatik, antara lain: *Bacillus macerans*, *B. mycoides*, *B. megaterium*, *B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. thermoleovorans*, *B. gordonae*, dan *B. Benzoeverans*.

Spons yang lebih spesifik tentang fungsi dan manfaat telah dilakukan dalam skala kecil dan sejumlah kecil penelitian tentang kandungan metabolik pada spons baik untuk zat aktif primer dan sekunder yang dapat mengarah pada penemuan bahan baku obat potensial, fungsi spons sebagai penyerap logam berat dan spons sebagai bahan/material pendegradasi hidrokarbon. Spons adalah hewan metazoa multiseluler yang merupakan pengumpulan penyaring berpori, sehingga menjadi habitat bagi mikroorganisme untuk bersarang di dalam tubuhnya. Mikroorganisme Symbion memiliki dua peran penting spons dalam sistem

biologis, pertama sebagai sumber makanan baik oleh mikroorganisme atau oleh mikroorganisme spons kedua menjadikan spons sebagai inang bagi kehidupan mikroorganisme dan sebaliknya, spons menggunakan mikrosymbion sebagai pertahanan untuk beradaptasi dan bertahan secara pada lingkungan laut yang ekstrim.

Spons termasuk dalam filum Porifera, merupakan organisme multiseluler tertua filogenetik, dengan evolusi yang berasal dari masa prekambrian. Habitat porifera dapat terjadi di habitat laut dan air tawar. Dikenal spons laut saat ini dibagi dalam empat kelas, yakni kelas Demospongiae, Calcarea, Hexactinellida dan Homoscleromorpha, yang pembagiannya didasarkan data morfologi dan analisis molekuler dan genetik. Demospongiae adalah kelas spons terbesar, termasuk sekitar 80% dari semua spons hidup dewasa ini, dimana hampir 7000 spesies di seluruh dunia. Kelas spons tersebut, dibagi menjadi tiga subklass, yaitu: subkelas Verongimorpha, Keratosa dan Heteroscleromorpha. Fokus dari tinjauan ini adalah penelusuran salah satu jenis demosponges yang secara eksklusif dimiliki oleh subkelas, Keratosa, yang kerangka bebas-mineralnya terdiri dari serat "terangsang" atau "keratosa". Serat-serat ini diketahui terdiri dari scleroprotein terhalogenasi, spongin. Baru-baru ini nama taksonomi, Keratosa, telah ditempatkan dalam kelompok yang dibentuk oleh Dictyoceratida dan Dendroceratida di pohon filogenetik baru. Dictyoceratida didefinisikan sebagai spons dengan kerangka serat spon yang dikembangkan dengan baik dan anastomosis, yang secara hierarkis diorganisasikan ke dalam serat primer, sekunder dan kadang-kadang tersier, dan membentuk proporsi yang signifikan dari volume tubuhnya. Sejak zaman kuno, spons ini telah dikenal sebagai "spons mandi". Contoh khasnya adalah spons mandi Mediterania *Spongia officinalis*, yang juga dikenal sebagai spesies ikonik dengan nilai sosial ekonomi tinggi. Detail morfologi spons *Callyspongia sp* dapat dilihat pada Lampiran 1, halaman 233-235.

4.2 Identifikasi spons dan mikrosimbion

Penentuan species spons dengan analisis histomorfologi dilakukan dengan cara: Sampel spons laut disiapkan dalam metanol 70%, dipilih bagian mesohyl spons, dipotong secara melintang dan diamati dengan

haemositometer, permukaan dioleksi dengan etanol 70%, lalu permukaan diamati dengan haemositometer, potongan spons di sterilkan dengan air laut steril yang telah disaring dengan filter 0,2 μm . Sampel spons dihancurkan dengan blender, kemudian suspensi sel diamati dengan mikroskop haemositometer untuk melihat tipe sel dan spesies spons. Metode analisis dilakukan dalam enam fase kerja, yaitu: 1) analisis histomorfologi; 2) penentuan komponen dan komposisi biomassa; 3) analisis fenotip mikrosbion, isolasi-pemurnian 4) karakterisasi dengan pewarnaan gram; 5) uji biokimia dan 6) analisis genitip mikrosimbion spons..

Identifikasi spons dilakukan dengan cara: spons dianalisis morfologi (warna, tekstur, bentuk, ukuran dan kedalaman air laut). Selama pengambilan sampel dan analisis sel spons secara histomorfologi di bawah mikroskop dengan metode MTT, uji, (1) kultur sel sebelum perawatan 24 jam inkubasi dimulai setelah 4 jam reagen MTT Ekstra, (2) sel kontrol, (3) konsentrasi ekstrak spons sebanyak 960 $\mu\text{g/mL}$, (4) konsentrasi ekstrak diperkirakan mencapai 7,5 $\mu\text{g/m}$, (5) kontrol menggunakan DMSO. Cara identifikasi sel spons dilakukan dengan mengambil contoh penentuan sel spons *Callyspongia* sp, yakni: Komponen dan komposisi biomassa sel dianalisis terlebih dahulu biomassa dari spons yang terdiri dari menentukan komposisi komponen dan pengukuran fraksi sel spons contoh dengan melihat kerangka komponen turunan dari spons berupa (spikula dan puing-puing sel) mencapai 68,9%, fraksi sel spons (choanosome) 19,4% dan 12,1% dari pelet bakteri.

Contoh kita lihat hasil analisis komposisi biomassa spons fraksi sel *Callyspongia* sp menunjukkan bahwa biomassa didominasi oleh kerangka, di mana komponen kerangka secara dominan dipengaruhi oleh morfologi. Struktur morfologi spikula spons dan fraksi puing-puing yang mengandung spongin begitu dominan sehingga menyebabkan morfologi *Callyspongia* sp lebih kaku mengandung spikula padatan padahal tidak memiliki mikrosel. Fraksi pelet bakteri rendah menunjukkan bahwa spons yang mengandung simbion bakteri hanya sedikit, sebagai indikator menunjukkan bahwa dinamika kehidupan spons tersebut pada habitatnya, menunjukkan bahwa spons *Callyspongia* sp hidup di daerah yang subur dan kaya akan bahan organik, sebaliknya jika komposisi sel spons yang

terdiri spikula di bawah 65% dan komponen yang lainnya lebih rendah, menunjukkan bahwa spons tersebut hidup pada perairan yang miskin bahan organik. Spons *Callyspongia sp* dengan kandungan biomassa sel yang dimilikinya masuk dalam kategori tinggi, tetapi mengandung sangat sedikit simbion bakteri. Hal ini menunjukkan bahwa dalam lingkungan spons *Callyspongia sp* tersedia cukup nutrisi untuk pertumbuhannya, sehingga kebutuhan bakteri tidak banyak dibutuhkan. Jika perairan habitat spon kaya bahan organik, maka kemungkinan spons tersebut tidak bersimbiosis dengan banyak jenis bakteri, hal ini disebabkan karena pada spons tersebut tersedia cukup bahan nutrisi untuk pertumbuhannya, sehingga mikroba simbion (bakteri) tidak banyak diperlukan dalam mekanisme oleh spons untuk proses adaptasi fisiologis.

Hal lainnya yang memengaruhi banyak-sedikitnya simbiosis mikroba (bakteri) pada jaringan spons adalah jika perairan tempat hidup spons terkontaminasi dengan limbah hidrokarbon atau logam berat ataupun kedua jenis limbah tersebut sebagai kontaminan maka efeknya kemungkinan besar spons akan menjaring sebanyak mungkin bakteri simbion untuk tujuan memproduksi zat berupa enzim untuk tujuan pertahanan diri dan juga untuk menarik nutrisi atau sumber makanan spons. Hasil di atas konsisten dengan hasil pengamatan histologi-morfologis dari spons *Callyspongia sp* yang telah dilakukan sebelumnya. Hasil ini menunjukkan bahwa ancaman lingkungan terhadap kehidupan, terutama spons *Callyspongia*, yang ada di perairan laut tidak terlalu ekstrim. Kelimpahan biomassa sel spons sangat dipengaruhi oleh suhu, iklim, zat organik, dan laju fotosintesi. Memperhatikan komposisi biomassa sel sponge *Callyspongia sp* yang diperoleh, dapat diprediksi bahwa jumlah dan jenis mikrosimbion pada spons tidak banyak dan variasi tak terbatas.

Ciri fisik sampel spons yang teramati secara langsung dilapangan, menggunakan instrument yang sesuai menunjukkan bahwa, warna spons adalah krem kecoklatan, bentuk memanjang sebagian bergerombol, memiliki spikula berupa silikat dan sponging berserabut. pertumbuhan spons membentuk massa dan oscula berserak sepanjang permukaan badan spons, keleton tidak beraturan dan berisi spongin terdiri atas bagian utama dan bagian berserabut. Berdasarkan hal tersebut maka disimpulkan

bahwa spons teridentifikasi dengan spesies *Callyspongia* sp, family *Callyspongiidae*, kelas *Demospongiae*,

Gambar 4.1 Hasil analisis morfologi spons spesies *Callyspongia* sp., a) pertumbuhan membentuk massiva, oscula berserak sepanjang permukaan badan spons; b) hasil pewarnaan dengan EtOH; c) tekstur hasil kompres; d) *megascleres axea* berupa garis singgung dengan berbagai ukuran.

Hasil tersebut di atas sesuai temuan sebelumnya oleh para ahli yang menyatakan bahwa struktur spons sekurang-kurangnya memiliki skeleton berisi spikula dan debris atau spongin, sel spons dan kemungkinan terdapat mikrosimbion.

4.3 Biomassa dan Isolasi Mikrosimbion Spons

Penentuan biomassa spons dapat dilakukan dengan beberapa metode, namun pada ulasan ini metode pensayatan untuk pemisahan biomassa spons laut dan bakteri simbion serta penentuan komponen penyusun spons dengan cara: Biomassa spons ditentukan dengan memotong satu bagian spons, kemudian dimasukkan ke dalam formalin 4%, diencerkan dengan air laut steril yang telah disaring dengan filter 0,2 μm dan selanjutnya di blender, suspensi diambil dan disentrifugasi pada 1000 rpm selama 5 menit, supernatan diambil dan dikembalikan untuk di disentrifugasi kembali pada kecepatan 5000 rpm selama 10 menit, fraksi. Setiap fraksi ditimbang untuk menentukan bobot biomassa dari spons.

Isolasi mikrosimbion spons dapat dilakukan dengan mengikuti prosedur isolasi bakteri simbion dari sampel spons laut dilakukan dengan cara spons laut yang telah diambil disemprot pada bagian permukaan dengan air laut steril perbandingan ukuran spons 1 cm^2 : 5 mL air laut steril, sehingga hanya bakteri dengan daya gabung yang kuat saja yang akan tersampling. Bagian mesohyl diambil dengan ukuran + 1x1 cm, digerus

dan diencerkan dengan *Phospat Buffer Saline* (PBS) steril dengan perbandingan 1:1. Isolasi bakteri dari permukaan luar menggunakan *swab steril* yang diusapkan dengan satu arah pada permukaan luar spons. *Swab steril* yang telah diusapkan pada permukaan sampel dimasukkan ke dalam tabung pengenceran yang berisi PBS steril dan divorteks. Hasil pengenceran disebar ke dalam cawan petri yang telah berisi media *Sea Water Complit* (SWC), diinkubasi pada suhu 26 °C selama 24-36 jam, diamati pertumbuhan koloni bakterinya. Setiap koloni bakteri yang tumbuh diamati morfologinya, yakni warna, ukuran dan bentuk koloni. Koloni yang terpilih, diambil menggunakan jarum ose bulat, dimurnikan dengan menggunakan media yang sama, diperoleh isolat.

Penentuan komposisi biomassa spons diawali dengan pemurnian isolat bakteri simbiosis spons laut. Biasanya dilakukan dengan metode *direct plating* yang dilakukan saat di lapangan, diamati koloni-koloni yang tumbuh sesudah inkubasi selama satu hingga dua minggu. Banyaknya koloni dihitung, kemudian koloni-koloni yang bentuk dan warnanya berbeda diisolasi. Masing-masing koloni dilakukan purifikasi, yaitu dengan cara menggoreskan 1 ose koloni arah zig-zag pada cawan petri yang berisi media 100 % *marine- agar* kemudian diinkubasi pada suhu 30 °C selama 1-2 hari. Sesudah tumbuh koloni-koloni baru dilakukan penggoresan ulang pada media 100 % *marine agar* hingga didapatkan koloni tunggal. Metode pengkayaan dilakukan dengan penyebaran cairan kultur ke media 100% *marine agar*, dilakukan sesudah dua minggu inkubasi, selanjutnya seperti metode *direct plating*, kultur diinkubasi pada suhu 30 °C selama satu minggu dan jumlah koloni dihitung, diisolasi dan dipurifikasi. Penyimpanan hasil purifikasi dilakukan menggunakan 25 % gliserol dalam media *marine agar*.

Isolasi dan pemurnian mikrosimbiosis spons dilakukan dengan cara menyemprotkan permukaan spons menggunakan air laut steril dengan perbandingan ukuran spons 1 cm²: 5 mL air laut steril, sehingga hanya bakteri dengan kombinasi kuat yang akan diambil sampelnya dikerahkan ke dalam cawan petri yang sudah mengandung media *Sea Water Complit* (SWC) dengan komposisi 1 liter medium yang terdiri dari 5 g / L bacto pepton, 1 ragi / ekstrak ragi dan 3 mL / L gliserol, dan diinkubasi pada 30 °C selama 24-36 jam, pertumbuhan diamati dari koloni. Setiap koloni

bakteri tumbuh diamati morfologi, yaitu warna, ukuran dan bentuk koloni. Koloni yang tumbuh dominan dipisahkan untuk diisolasi dan dimurnikan dengan menggunakan media yang sama.

Analisis makroskopik hasil isolasi bakteri simbiosis spons *Callyspongia sp*, yaitu warna, tekstur, bentuk, ukuran sel dan pertumbuhan koloni, merupakan indikator pengamatan dalam karakterisasi dan identifikasi mikrosimbion. Koloni bakteri yang diambil untuk diisolasi adalah koloni yang bentuk dan ukurannya sama serta tumbuh dominan. kedua koloni diidentifikasi tumbuh baik pada pengenceran 10^{-2} - 10^{-4} , dari pertumbuhan seri pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-6} , dilakukan pada Media *Merine Agar* (MA) sebagai media pertumbuhan bakteri karena sifatnya netral dan mengandung banyak nutrisi, yaitu *yeast* ekstrak sebagai sumber protein, sedangkan pepton sebagai sumber asam amino. Isolat yang memiliki bentuk dan ukuran sama, selanjutnya dipurifikasi. Hasil purifikasi terhadap isolat mikrosimbion *Callyspongia sp* diperoleh dua isolat tunggal dengan ciri berbeda dapat dilihat pada hasil analisis makroskopik dan mikroskopik Gambar 4.2, berikut:

Gambar 4.2 a) isolat 1; b) isolat 2. Kedua isolat tunggal hasil isolasi dan purifikasi, merupakan mikrosimbion spons *Callyspongia sp* asal Pantai Melawai Balikpapan, Kalimantan Timur.

Hasil pengamatan morfologi di bawah mikroskop diperoleh dua macam isolat; dengan ciri-ciri isolat 1, berbentuk bulat, warna krem yang melekat erat pada permukaan agar dan penyebaran koloni bergerombol, sedangkan isolat 2, bentuk batang, bergerigi, berwarna kecoklatan, koloni menyebar secara terpisah-pisah. Hasil isolasi dan purifikasi dengan hasil 2 isolat tunggal adalah rasional jika dibandingkan dengan komposisi komponen penyusun biomassa spons yang didominasi oleh skeleton (spikula dan sel debris) dan sebagian kecil pellet bakteri.

4.4 Morfologi Mikrosimbion (Bakteri) Spons

Bakteri dapat didefinisikan sebagai mikroorganisme yang bersel satu, tidak berklorofil (meskipun ada tapi sedikit), berkembang biak dengan pembelahan diri, dan hanya dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop. Morfologi bakteri dengan bentuk dasar: berupa batang (basil): monobasil, diplobasil, streptobasil atau bentuk bulat (coccus): monokokus, diplokokus, streptokokus, tetrakokus dan bisa juga bakteri dengan bentuk lengkung (koma, vibriion, spiral): vibrio, spirillum. Anatomi bakteri terdiri atas berupa bentuk 1) kapsul: bukan merupakan bagian anatomi bakteri karena hasil dari ekskresi bakteri; 2) dinding sel: adalah bagian yang memberi bentuk, kekuatan dan perlindungan terhadap sel. Terletak antara kapsul dan membrane sel; 3) membran sel: berupa selaput pembungkus sitoplasma, bagian vital bakteri seperti pengaturan osmoregulasi. Jika membran sel rusak maka bakteri dapat mati; 4) sitoplasma berupa cairan dalam sel; 5) Nukleotoid biasanya tidak mempunyai dinding sel; 6) bagian plasmid yaitu materi genetik dari bakteri non esensial, tidak berkaitan dengan viabilitas (daya hidup); dan 7) ribosoma merupakan tempat sintesa protein dari bakteri serta: 8) flagella berfungsi untuk membantu pergerakan bakteri.

Perkembangbiakan Bakteri umumnya melakukan dengan cara reproduksi atau berkembang biak secara aseksual (vegetative) dengan membelah diri. Pembelahan sel pada bakteri adalah pembelahan biner yaitu setiap sel membelah menjadi dua. Bakteri melakukan reproduksi secara seksual, yaitu mekanisme pertukaran materi genetik dengan bakteri lainnya. Pertukaran materi genetik disebut rekombinasi genetik atau rekombinasi DNA dengan melihat susunan basa nitrogen dari bakteri. Rekombinasi genetik dapat dilakukan dengan tiga cara, yaitu: transformasi adalah pemindahan sedikit materi genetik sel bakteri ke sel bakteri yang lainnya, transduksi merupakan rekonbinasi dengan pemindahan materi genetik satu sel bakteri ke sel bakteri lainnya dengan perantaraan organisme yang lain, yaitu bakteriofage (virus bakteri), dan konjugasi adalah pemindahan materi genetik berupa plasmid secara langsung melalui kontak sel dengan membentuk struktur seperti jembatan diantara dua sel bakteri yang berdekatan.

Penggolongan bakteri dibagi berdasarkan kebutuhan oksigen, yakni bakteri Aerob dan bakteri Anaerob. Bakteri golongan Aerob adalah golongan bakteri yang menggunakan oksigen bebas, terdiri atas tiga bagian, yakni: *Obligate aerob* adalah bakteri yang tidak dapat hidup tanpa oksigen; aerob fakultatif adalah golongan bakteri aerob yang dapat hidup dalam kondisi anaerob; dan golongan bakteri Mikroerofil yaitu golongan bakteri yang membutuhkan oksigen dalam jumlah sedikit. Bakteri golongan anaerob adalah bakteri yang membutuhkan oksigen terikat dalam bahan organik seperti oksigen yang berasal dari hasil reduksi pada nitrat. Beberapa jenis bakteri golongan anaerob, yakni: *Obligate anaerob* adalah jenis bakteri yang dapat hidup tanpa ada ketersediaan oksigen; *Aerotoleran* adalah bakteri yang tidak mati meskipun ada oksigen; dan jenis bakteri *Kapnofil* adalah bakteri anaerob yang memerlukan oksigen rendah dan membutuhkan jumlah karbon tinggi.

Golongan bakteri berdasarkan sumber energi, yakni bakteri jenis fototrof adalah bakteri yang mendapatkan energi dari cahaya matahari melalui proses fotosintesis; jenis bakteri Kemotrof adalah bakteri yang memperoleh energi dari hasil reaksi oksidasi material kimia. Bakteri berdasarkan donor elektron terdiri atas: Litotrof adalah jenis bakteri yang memerlukan atau menggunakan elektron dari bahan-bahan anorganik, bakteri tersebut menggunakan elektron dari bahan organik, sedangkan golongan bakteri berdasarkan sumber karbon, adalah jenis bakteri yang melangsungkan hidupnya dengan mengkonsumsi karbon dalam jumlah tertentu. Bakteri jenis ini diantaranya bakteri Autotrof yaitu jenis bakteri yang menggunakan karbon anorganik, seperti molekul berikut: CO_2 , HCO_3^- , dan CO_3C_2^- , sebagai sumber karbonnya berasal/diperoleh dari fitoplankton; jenis heterotrof adalah bakteri menggunakan bahan organik sebagai sumber karbon, diantaranya C, H, N, O, P, yang diperoleh dari material laut berupa zooplankton.

4.5 Analisis Fenotip Mikrosimbion Spons

Identifikasi bakteri secara tradisional berdasarkan karakteristik fenotip umumnya tidak seakurat identifikasi berdasarkan metode genotip, meskipun demikian bahwa terdapat informasi penting dari analisis fenotip yang dibutuhkan untuk melihat karakter bakteri tersebut berdasarkan

reaksinya pada media tertentu. Mengidentifikasi strain yang sulit dengan metode fenotipik dengan profil biokimia yang membingungkan dapat diselesaikan dengan sekuensing gen 16S rRNA. GenBank dalam metode genotip. GenBank sebagai bank data memiliki nukleotida lebih dari 20 juta deposit sekuensing dan 90.000 diantaranya adalah gen 16S rRNA. Ini berarti bahwa banyak deposit sekuensing sebagai pembandingan terhadap strain yang tidak diketahui.

Karakterisasi bakteri simbiosis spons menggunakan metode identifikasi pewarnaan Gram dan uji biokimia. Proses dilakukan dengan mengambil gram pewarna bakteri 1 ose pada kaca preformat yang sebelumnya telah dibebaskan dari asam lemak bebas dengan alkohol 96%, kemudian digunakan sebagai tetes kristal ungu (Gram A), tetes Lugol (Gram B), tetes alkohol acetate (Gram C), dan uji safranin (Gram D), uji dengan KOH 1%. Standar uji biokimia terdiri 15 parameter uji pada media yang sesuai, seperti hidrolisis pati, kasein dihidrolisis, reaksi indol, reduksi nitrit, fermentasi glukosa, fermentasi laktosa, fermentasi sukrosa, fermentasi manitol, uji sitrat, uji katalase, uji urease, uji H₂S, uji metil merah, uji dan uji gelatin Voges Proskauer. Indikator pengamatan dengan melihat perubahan warna, kekeruhan atau sedimen di media yang menunjukkan reaksi.

4.5.1 Penentuan Golongan Gram Mikrosimbion

Karakterisasi isolat murni dengan pewarnaan Gram dan uji biokimia merupakan dua metode umum yang sering digunakan dalam analisis fenotip bakteri. Identifikasi isolat bakteri metode pewarnaan Gram, dilakukan dengan prosedur: pengambilan biakan bakteri 1 ose pada objek glass yang sebelumnya telah dibebaskan-lemakkan dengan alkohol 96%, lalu di tetesi Kristal violet (Gram A) 1-3 tetes dibuat hapusan, diamkan kemudian dicuci menggunakan aquadest lalu dikeringkan, kemudian ditetesi larutan lugol (Gram B) 1-3 tetes, dibuat hapusan, diamkan, kemudian, dicuci dan dikeringkan, lalu ditetesi dengan alkohol asetat (Gram C) 1-3 tetes lalu dibuat hapusan, diamkan, dan dicuci menggunakan aquadest dan dikeringkan, kemudian ditetesi safranin (Gram D), dibuat hapusan kemudian didiamkan, lalu dicuci menggunakan

aquadest dan dikeringkan, setelah itu diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 10X.

Hasil pengamatan terhadap koloni-koloni yang teridentifikasi dapat tumbuh dengan baik dalam pengenceran 10^{-2} hingga 10^{-4} meskipun sering kali dilakukan sampai pengenceran 10^{-6} . Berikut ini yang dicontohkan adalah isolat bakteri yang diisolasi dari spons *Callyspongia* sp., Identifikasi dan pemurnian mikroskopis dari spons terisolasi *Callyspongia* sp diperoleh hanya dua isolat. Isolat pertama dengan karakteristik bentuk bundar besar, putih krem, koloni berkerumun atau menumpuk, selanjutnya disebut isolat, dan mengisolasi kedua karakteristik bentuk bergerigi, memanjang, putih, ungu, koloni terpisah. Hasil isolasi dan pemurnian simbion bakteri diperoleh dua isolat, hal ini sesuai dengan komposisi dan jenis komponen biomassa yang didominasi oleh kerangka (spikula dan puing-puing sel) atau jumlah dan jenis bakteri simbion tidak banyak dilakukan karena spons menunjukkan hidup pada perairan yang kaya komponen organik.

Hasil pengamatan morfologi dan uji pewarnaan Gram 2 jenis isolat yang diperoleh dari spons *Callyspongia* sp, sebagaimana dalam Tabel 4.1 berikut:

Tabel 4.1 Hasil Analisis Mikroskopik dengan Pewarnaan Gram Bakteri Simbion Spons *Callyspongia* sp

Pengamatan	Isolat 1	Isolat 2
Warna	biru-ungu	ungu
Bentuk	Batang	basil
Reagent Safranin	warna tetap	Warna tetap
Endospora	Ada, kurang jelas	Ada, kurang jelas
Terhadap alkali (1% KOH)	Tidak larut	Tidak larut
Simpulan	gram positif	gram positif

Mencermati data Tabel 4.1, disimpulkan bahwa kedua isolat mikrosimbion spons *Callyspongia* sp adalah kelompok bakteri gram positif, berdasarkan hasil analisis makroskopik terhadap isolat 1, yaitu sel bakteri berbentuk batang permukaan rata, koloni terpisah, warna tetap setelah ditambahkan reagen gram D (safranin), dan tidak memperlihatkan adanya lendir setelah penambahan alkali 1 % KOH, sedangkan isolat 2,

bentuk sel bulat, permukaan rata dan koloni terpisah, warna tetap setelah ditambahkan safranin dan tidak memperlihatkan pelarutan setelah penambahan alkali 1 % KOH. Pada penambahan reagen D (Safranin), teramati tidak ada perubahan warna kedua isolat disebabkan karena dinding sel kedua isolat berupa rantai peptida yang tebal, sehingga reagen safranin atau air fuchsin tidak dapat menembus dinding sel yang tebal. Bakteri gram positif tidak memiliki lapisan lemak yang melimpah sehingga pada saat pemberian alkali 1 % KOH tidak menunjukkan adanya lendir yang dapat larut.

4.5.2 Uji Biokimia Mikrosimbion (Bakteri) Spons

Komposisi biokimia sel bakteri yang terdiri atas air bebas dan terikat mencapai volume sekitar 70 – 85% dan kandungan bahan organik serta bahan anorganik mencapai 15 – 30%. Fungsi air bagi bakteri, yaitu: peran utama pada semua proses kimia yang berlangsung dalam tubuh bakteri; sebagai sumber oksigen bagi bahan organik sel bakteri; pelarut nutrient bakteri, sehingga dapat diserap dan dicerna; dan fungsi menyerap panas yang dihasilkan selama proses metabolisme bakteri berlangsung. Dinding sel merupakan struktur dasar sel bakteri yang tersusun dari peptidoglikan (gabungan protein dan polisakarida). Ketebalan dari peptidoglikan dapat membagi bakteri menjadi bakteri gram positif bila peptidoglikannya tebal sedangkan bakteri gram negatif memiliki peptidoglikan tipis. Membran plasma bakteri adalah membran yang menyelubungi sitoplasma yang tersusun atas lapisan fosfolipid dan protein. Sitoplasma adalah cairan sel. Ribosom adalah organel yang tersebar dalam sitoplasma, tersusun atas protein dan RNA. Flagellum atau bulu cambuk sebagai alat gerak pada bakteri yang berbentuk batang atau spiral yang menonjol dari dinding sel.

Karakterisasi bakteri dilakukan untuk melihat kecenderungan dan kemampuan bakteri dalam berinteraksi dengan media pereaksi spesifik. Metode ini dikenal dengan uji biokimia. Standar uji biokimia terdiri dari 15 parameter uji pada media yang sesuai yang terdiri dari: pati uji hidrolisis, kasein terhidrolisis, reaksi indole, reduksi nitrit, fermentasi glukosa, fermentasi laktosa, fermentasi sukrosa, fermentasi manitol, uji sitrat, uji katalase, uji urease, uji H₂S, uji metil merah, dan uji gelatin

Voges Proskauer. Indikator pengamatan dengan melihat perubahan warna, kekeruhan atau sedimen di media yang menunjukkan adanya reaksi.

Uji biokimia dilakukan untuk identifikasi bakteri terdiri dari uji TSIA, indol, reduksi nitrat, urease, gelatin, O/F, LIA, Simmon's Citrate, gula, oksidase dan katalase, sebagaimana dalam Tabel 4.2, berikut:

Tabel 4.2 Tabel {Pengamatan Uji Biokimia Isolat Symbion Spons *Callyspongia* sp

Uji Biokimia	Media	Indikator pengamatan	Reaksi	
			Isolat 1	Isolat 2
Hidrolisa Pati	Agar Pati	+ media tampak jernih/ - Media keruh	+	+
Hidrolisa Kasein	Agar Susu	+ zona berwarna bening di sekitar pertumbuhan bakteri - tidak terbentuk zona bening	+	+
Indol	K. tryptone	+ ada cincin berwarna merah pada bagian atas suspensi bakteri - tidak ada cincin merah	+	+
Reduksi Nitrat	K. Nitrat	+ tidak ada perubahan warna - kaldu berwarna merah	+	+
Ferm.Glukosa	K. Glukosa	+ fenol merah pada media berubah menjadi kuning, dan terbentuk gas pada Tabung Durham - warna tetap merah, dan tidak terbentuk gas	-	-
Ferm.Laktosa	K. Laktosa		-	-
Ferm.Sukrosa	K. Sukrosa		-	-
Ferm.Mannitol	K.Mannitol	- warna tetap merah, dan tidak terbentuk gas	+	+
Sitrat	Agar S. Citrate	+ media berwarna biru Keunguan - media tetap berwarna hijau	-	+
Katalase	NA Miring	+ gelembung udara pada koloni - tidak ada gelembung udara	+	-
Urease	Kaldu Urea	+ media berwarna merah muda gelap - media tetap berwarna merah	-	-

H ₂ S	Agar H ₂ S	+ daerah tusukan inokulasi berwarna hitam - tidak ada perubahan warna	+	+
Metil Merah	Kaldu R-VP	+ ada cincin berwarna merah pada bagian atas suspensi bakteri - ada cincin berwarna kuning	+	+
Voges Proskauer		+ ada cincin berwarna merah muda pada bagian atas suspensi bakteri - tidak ada cincin merah muda	+	+
Hidrolisa Gelatin	Nutrien Gelatin	- media berubah menjadi fasa semi-cair (gelatin) - media tetap dalam fasa cair	+	-
Kesimpulan Isolat 1 Isolat 2		Golongan Bacillus Golongan Bacillus		

Berdasarkan Tabel 4.2 di atas menunjukkan bahwa dalam karakteristik dari kedua isolat spons tersebut dapat dilakukan dengan diuraikan analisis sebagai berikut:

1. Uji TSIA (Triple Sugar Iron Agar)

Uji TSIA bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri yang berasal dari kelas enterobacteriaceae. Uji Triple Sugar Iron agar (TSIA) merupakan metode untuk melihat kemampuan mikroorganisme dalam memfermentasikan gula. Medium TSIA mengandung 3 macam gula yaitu glukosa, laktosa, dan sukrosa serta terdapat indikator fenol merah dan FeSO₄ untuk memperlihatkan pembentukan H₂S yang ditunjukkan dengan adanya endapan hitam. Hasil positif ditandai dengan munculnya warna kuning dan merah. Warna kuning muncul karena adanya fermentasi bakteri terhadap glukosa, sukrosa, ataupun laktosa dalam konsentrasi tinggi sedangkan dalam konsentrasi gula yang rendah hanya nampak warna merah. Sedangkan hasil positif adanya H₂S ditandai dengan adanya warna hitam, namun pada uji diatas dengan 2 isolat dari spons *Callyspongia* sp disimpulkan bahwa hasil reaksi negatif, berarti tidak ada pembentukan H₂S, artinya bahwa kedua isolat tersebut tidak dapat memfermentasi gula.

2. Uji Indol

Uji indol bertujuan untuk mengetahui apakah kedua isolat di atas yang diisolasi dari spons *Callyspongia* sp dapat menghasilkan gugus indol dari tritofan yang berarti bahwa isolat tersebut memiliki enzim tritofonase yang akan menghidrolisis tritofan menghasilkan prodduk-produk metabolik seperti asam piruvat, ammonia dan indol. Keberadaan gugus indol dideteksi dengan menambahkan reagent Kovacs menghasilkan cincin warna merah pada permukaan medium. Sesuai dengan hasil uji di atas kedua isolat simbiosis spons tersebut positif, artinya mampu menghasilkan gugus indol.

3. Uji Reduksi nitrat

Keberadaan nitrit dalam media diuji dengan penambahan asam sulfanilat dan α -naftilamin yang akan bereaksi dengan nitrit yang ditunjukkan dengan perubahan warna media menjadi merah atau merah muda. Hasil uji kedua isolat di atas adalah positif ditunjukkan pada tabung menunjukkan perubahan warna dan setelah penambahan bubuk Zn untuk melihat reduksi nitrat menjadi nitrit ditandai dengan adanya nitrat dalam medium berdasarkan warna kaldu berubah menjadi merah muda. Hal ini diakibatkan karena Zn mereduksi nitrat menjadi nitrit dan nitrit ini bereaksi dengan reagen uji dan terbentuklah warna merah. Hasil ini juga menunjukkan dugaan bahwa kedua isolat simbiosis spons *Callyspongia* sp di atas merupakan golongan bakteri anaerob fakultatif. Isolat tersebut mampu menggunakan nitrit dan adanya O_2 dapat menghambat reduksi nitrat sehingga dalam reaksi gas oksigen dihabiskan, kemudian menggunakan nitrat untuk aktivitas selanjutnya sebagai ciri dari bakteri golongan anaerob.

4. Uji Urease

Urease broth merupakan media differensial yang dapat membedakan bakteri penghasil eksoenzim yaitu enzim urease (untuk menghidrolisa urea menjadi amonia karbondioksida). Kandungan Urease broth meliputi Buffer, Urea, sedikit nutrient, indikator fenol merah. Fenol merah akan berubah jadi kuning dalam suasana lingkungan asam dan berubah menjadi merah muda dalam suasana lingkungan basa. Berdasarkan uji pada kedua isolat di atas disimpulkan bahwa isolat 2 negatif artinya bahwa media urea tidak dapat terdegradasi menjadi

amoniak, artinya lingkungan dalam suasana basa sehingga media menjadi merah muda. Secara umum sebagian besar bakteri golongan enterik dapat mendegrasi urea, tetapi lambat. Fungsi uji urease adalah mendeteksi bakteri yang dapat mendegradasi dengan cepat oleh urease positif.

5. Uji Gelatin

Hasil uji kedua isolat simbiosis spons *Callyspongia* sp di atas menunjukkan bahwa isolat 1 adalah positif dan isolat 2 negatif, artinya bahwa hanya isolat 1 yang memiliki enzim gelatinase yang mampu menghidrolisis gelatin, sedangkan isolat 2 tidak mampu menghidrolisis gelatin. Hal ini ditandai pada uji isolat 2 tidak terlihat adanya gelatin yang terlihat mencair sedangkan pada uji isolat 1, ditandai dengan gelatin tetap dalam keadaan padat.

6. Uji O/F (Oksidatif/Fermentatif)

Uji oksidatif fermentasi bertujuan untuk mengetahui apakah suatu bakteri mampu melakukan reaksi fermentasi dan reaksi oksidasi ditandai dengan munculnya warna kuning pada medium OF. Pada uji OF jika organisme oksidatif terjadi apabila terlihat perubahan warna pada media yang terbuka, sedangkan organisme fermentatif dapat diindikasikan dengan melihat tidak adanya perubahan warna pada media yang tertutup. Hasil uji terhadap kedua isolat simbiosis spons di atas menunjukkan hasil negatif artinya kedua isolat tidak dapat melakukan reaksi fermentasi dan reaksi oksidatif.

7. Uji LIA (Lysine Iron Agar)

Uji LIA pada bakteri bertujuan untuk melihat kemampuan mikroorganisme dalam mendekarboksilase lisin membentuk amin kadaverin yang bersifat basa, dimana indikator bromkresol ungu dari warna coklat berubah menjadi warna ungu (reaksi positif). Reaksi ini dapat disertai atau tidak disertai dengan pembentukan gas (adanya gelembung/pecahnya agar di daerah tusukan atau adanya endapan hitam).

8. Uji Gula

Uji gula-gula di gunakan untuk melihat adanya kemampuan bakteri dalam memfermentasikan karbohidrat menjadi asam-asam organik, yaitu dengan adanya perubahan warna indikator yang terdapat dalam pemberian warna merah menjadi warna kuning. Dimana mikroorganisme memperoleh energi dari substrat berupa karbohidrat yang

selanjutnya di fermentasi menjadi asam-asam organik disertai atau tidak terbentuknya gas. Organisme-organisme yang berbeda akan menggunakan karbohidrat yang berbeda tergantung dari komponen enzim yang dimilikinya. Hasil uji kedua isolat di atas menunjukkan bahwa keduanya mampu memfermentasi karbohidrat menjadi asam organik.

9. Uji Simmon's Citrate

Hasil uji kedua isolat simbiosis spons *Callyspongia* sp menunjukkan bahwa isolat 1 negatif dan isolat 2 positif. Hal ini menunjukkan bahwa uji Simmon's Citrate ditandai dengan perubahan warna media menjadi biru. Uji ini digunakan untuk melihat kemampuan organisme enterik berdasarkan kemampuan memfermentasi sitrat sebagai sumber karbon. Perbenihan Simmon's Citrate ini mengandung indikator biru bromtimol yang dapat berubah menjadi biru pada reaksi positif dan tetap hijau jika reaksi negatif.

10. Uji Oksidase

Uji oksidase bertujuan untuk membedakan bakteri berdasarkan aktivitas sitokromoksidase. Enzim-enzim oksidase memainkan peran yang vital dalam pelaksanaan sistem transport elektron pada respirasi aerob. Sitokrom oksidase mengkatalisis oksidasi dari sitokrom yang tereduksi oleh oksigen molekular (O_2), menghasilkan pembentukan H_2O atau H_2O_2 . Uji oksidase merupakan alat untuk membedakan antara anggota-anggota dalam genus *Neisseria* dan *Pseudomonas*, yang merupakan oksidase positif, dan *Enterobacteriaceae* yang merupakan oksidase negatif. Terjadinya perubahan warna, media dari kedua isolat di atas menunjukkan adanya aktivitas oksidase, menunjukkan hasil uji yang negatif.

11. Uji Katalase

Uji katalase bertujuan untuk mengetahui adanya enzim katalase yang dihasilkan oleh suatu bakteri untuk memecah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 . Peroksida merupakan senyawa yang sangat berbahaya bagi bakteri karena merupakan gas yang bersifat toksik yang menyebabkan rusaknya sel-sel bakteri. Enzim katalase pada bakteri dapat dideteksi dengan penambahan substrat H_2O_2 . Hasil positif dari aktivitas katalase positif ditandai dengan adanya gelembung gas O_2 . Isolat 1 menunjukkan hasil positif, artinya isolat tersebut dapat memecah molekul peroksida menjadi

molekul H_2O dan O_2 , sedangkan pada isolat 2 tidak mampu memecah peroksida mejadi molekul air dan gas O_2 , Kedua isolat tersebut diisolasi dari spons *Callyspongia* sp.

4.6 Analisis Genotip Bakteri Simbiosis Spons

Analisis genomik terhadap suatu bakteri bertujuan untuk mengetahui karakteristik dari bakteri tersebut termasuk dalam menentukan spesiesnya dengan metode amplifikasi (perbanyakan) primer Oligonuklleotida dan pensejajaran rantai basa nitrogen. Perolehan koloni tunggal dilakukan dengan Koloni tunggal diperoleh masing-masing dari isolat sampel, dipanaskan hingga 95°C selama 5 menit. Gen 16S rRNA diamplifikasi dengan primer bakteri universal 63f dan . Reaksi PCR telah terbentuk dalam volume reaksi 30-IL yang berisi 19 buffer DreamTaq (Fermentas, MA), 0,2 mM setiap dNTP (dATP, dTTP, dGTP, dCTP) 0,05 unit IL, 1 DreamTaq polymerase (Fermentas) dicampuran 1 M masing-masing reverse dan maju primer.

Proprestasi PCR adalah sebagai berikut: Bakteri simbion didenaturasi selama 5 menit, suhu 94°C , diikuti oleh 30 siklus denaturasi 1 menit pada 94°C , 1 menit 20 detik annealing pada 54°C dan 2 menit perpanjangan pada 72°C , berakhir dengan elongasi 10 menit pada 72°C . Ekstraksi DNA dan amplifikasi PCR Sampel air produksi disaring melalui filter membran polikarbonat (ukuran 0,22 mm; Millipore, Bedford, MA, USA). Kemudian, membran dipindahkan ke tabung steril secara individual dan sel-sel dilarutkan dalam bead beater. Total DNA genomik kemudian diekstraksi dengan menggunakan AxyPrep™ Bacterial Genomic DNA Miniprep Kit (Axygen Biosciences, Inc., CA, USA). Gen 16S rRNA sampel bakteri simbion, diamplifikasi menggunakan archaeal primer 109F/912R. Melakukan analisis genomik dilakukan dengan menyiapkan tabung 0,2 mL dan dimasukkan 20 μL Polimerase Chain Reaction (PCR) mix ke dalam tabung, kemudian ditambahkan primer Forward dan reverse masing-masing 0,5 μL , kemudian ditambahkan 4 μL sampel sehingga volume campuran menjadi $\pm 24,7 \mu\text{L}$. (Prosedur di atas dikerjakan aseptik), selanjutnya dilakukan analisis dengan pengukuran melalui running menggunakan PCR.

Running Polimerase Chain Reaction (PCR)

Prinsip kerja running PCR dalam reaksi pelipatgandaan suatu fragmen DNA berlangsung dalam 3 kali siklus, yakni: *siklus pertama*, dimulai dengan denaturasi DNA, sehingga DNA terpisah menjadi rantai yang lebih sederhana dan akhirnya menjadi tunggal dilakukan pada suhu 95 °C selama 2 menit; *siklus kedua*, terjadi penempelan primer (*annealing*) pada suhu 65 °C berlangsung selama 2 menit, sehingga primer membentuk jembatan hidrogen pada cetakan di daerah sekuen. Tahapan selanjutnya, adalah *extension*, yaitu DNA polimerase melakukan proses polimerase rantai baru berdasarkan informasi pada DNA cetakan, (proses berlangsung pada suhu 72 °C dalam waktu 2 menit); dan *siklus ketiga*, terjadi pada suhu 72 °C selama 10 menit, dimana rantai DNA baru akan membentuk jembatan hidrogen dengan DNA cetakan, sehingga diperoleh ± 123 pasangan basa nitrogen atau *base pair* (bp), (Prosedur di atas dikerjakan aseptik).

Hasil sekuensing yang diperoleh berupa data mentah, selanjutnya diolah menggunakan perangkat software program BioEdit versi 7.2.5. Data yang telah diolah oleh program BioEdit digunakan sebagai data dasar untuk diolah kembali pada *multiple alignment* (pensejajaran berganda) dengan database. Gen 16S rRNA bersifat universal pada bakteri, secara umum perbandingan urutan 16S rRNA. Hasil sekuensing dibuka melalui program bioedit, kemudian sekuen DNA bakteri dimasukkan ke program *Basic Local Alignment Search Tool*, (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), sekuen diidentifikasi dengan database DNA GenBank pada situs tersebut.

Analisis urutan sekuen DNA sampel isolat 1 pada bentangan nukleotida 17-916 atau 899 bp, dengan rincian golongan purin terdiri atas 28,44 % Guanin, 24,27 % Adenin dan golongan pirimidin terdiri atas 25,10% Citosin dan 21,15 % Timin dan terdapat 1,04 % deretan non pasangan nukleotida. Isolat tersebut memiliki kesamaan genus yang tinggi mencapai 89 % homolog terhadap pensejajaran berganda sekuen GenBank pada bentangan 554-1461 bp, Selanjutnya teridentifikasi *Bacillus subtilis*. Sebelumnya juga telah dilakukan identifikasi *Basillus Subtilis* metode PCR pada ± 800 bp, (Ling Xu *et al.*, 2012; Ramadhan *et al.*, 2012). Sedangkan urutan sekuen DNA isolat 2 pada bentangan nukleotida 10-960 atau 950 bp, dengan rincian golongan purin, terdiri atas 30,62 % Guanin,

25,46 % Adenin dan golongan pirimidin terdiri atas 22,58 % Citosin dan 20,31% Timin dan terdapat 1,03 % deretan non pasangan nukleotida. Isolat tersebut memiliki kesamaan genus yang tinggi mencapai 99% homolog terhadap pensejajaran berganda sekuen GenBank pada bentangan 19-968 bp yang teridentifikasi *Bacillus flexus*. Sebelumnya telah dilakukan identifikasi *Basillus flexus* metode PCR pada ± 1.000 bp, (Alamri, 2012). Kedua spesies ini merupakan genus *Bacillus*, family *Bacillaceae* dan kelas *Bacilli*.

Hasil BLAST yang mencapai tingkat kesamaan genus tinggi apabila mencapai di atas 80 % homolog. Identifikasi melalui PCR dan sekuensing DNA bakteri melalui program *BLAST* lebih menyakinkan karena dibandingkan dengan data DNA bakteri pada GenBank yang memuat puluhan hingga jutaan data DNA bakteri yang ada, (Samaila *et al.* 2014). Hasil ini memberi keyakinan yang kuat bahwa kedua spesies ini merupakan genus *Bacillus*, diketahui dapat melaksanakan reaksi kimia pemecahan molekul hidrokarbon, sehingga wajar apabila spons *Callyspongia* sp yang bersimbion dengan *Basillus subtilis* dan *Basillus flexus* dapat hidup dan mampu menyesuaikan diri dengan lingkungan tercemar hidrokarbon

Ada empat tahap isolasi DNA, yakni pemecahan sel, ekstraksi DNA, presipitasi DNA dan pencucian DNA. Metode PCR dengan pengurutan gen 16S rRNA memungkinkan identifikasi bakteri lebih akurat daripada yang diperoleh dengan pengujian fenotip. Analisis 16S rRNA memungkinkan penemuan patogen baru, karena dapat mengidentifikasi bakteri yang tidak dapat dikultur. Hasil runnining dengan menggunakan PCR terhadap dua isolat simbion spons *Callyspongia* sp, diperoleh deretan DNA, sehingga sejumlah pasangan basa nitrogen dalam bp dilakukan pensejajaran rantai dan dicocokkan dengan deretan DNA referensi untuk menentukan strain dan spesies dari kedua isolat tersebut. Halinya diperoleh bahwa pada isolat 1 merupakan bakteri jenis basillus dengan nama *Bacillus subtilis* strain BAB- 1684 (BS), suspensi isolat 2 (dua) yakni spesies *Bacillus flexus* strain PHCDB20 (BF). Data rinci tentang hasil analisis genotip mikrosimbion spons *Callyspongia* sp dapat dilat pada Lampiran 2, halaman 236-241.

4.7 Preparasi Mikrosimbion Spons dalam Metode Biodegradasi

Preparasi bakteri simbiosis spons *Callyspongia* sp (spons contoh) dilakukan dengan mengisolasi bakteri simbiosis spons tersebut sampai diperoleh isolat tunggal yang murni. Dalam eksperimen ini juga dilakukan preparasi biomassa spons untuk tujuan mengetahui kemampuan biomassa tersebut dalam aktivitas biodegradasi limbah hidrokarbon. Isolat murni dan biomassa spons tersebut di buat suspensi dan suspensi ini dilakukan penentuan jumlah koloni suspensi bakteri dan biomassa spons dilakukan dengan cara: Dibuat 5 macam suspensi, yakni; suspensi isolat 1 (satu), yaitu spesies *Bacillus subtilis* strain BAB-1684 (BS), suspensi isolat 2 (dua) yakni spesies *Bacillus flexus* strain PHCDB20 (BF), dan suspensi isolat bakteri campuran (isolat 1 + isolat 2) dengan kode BSF (perbandingan volume 1:1), suspensi sel biomassa spons *Callyspongia* sp kode (BM) dan suspensi kontrol menggunakan *Pseudomonas* sp murni (KP). Volume masing-masing suspensi dibuat sebanyak 500 mL.

Pembuatan suspensi Bakteri dan biomassa spons

Suspensi isolat spons untuk jenis bakteri *Bacillus subtilis* strain BAB- 1684 (BS) dibuat dengan prosedur:

1. Memasukkan ± 2 mL larutan NaCl 0,9 % fisiologis ke dalam tabung reaksi yang berisi isolat BS;
2. Kocok hingga merata, diperkirakan semua koloni BS larut diperoleh suspensi pekat;
3. Suspensi tersebut diencerkan dengan memasukkan dalam labu takar 500 mL yang sebelumnya telah diisi larutan NaCl 0,9 % fisiologis;
4. Homogenkan suspensi tersebut dan volume diimpitkan hingga tanda batas, dikerjakan steril menggunakan sarung tangan, masker dan dikerjakan dalam LAF. Prosedur yang sama untuk membuat suspensi *Bacillus flexus* strain PHCDB20 (BF), suspensi campuran BS dan BF atau suspensi (BSF), suspensi biomassa spons (BM) dan suspensi bakteri kontrol positif (KP).

Masing-masing suspensi yang telah disiapkan kemudian dihitung jumlah koloninya, dimana suspensi tersebut akan digunakan untuk proses biodegradasi limbah hidrokarbon baik jenis alifatik berupa sludge minyak bumi maupun limbah hidrokarbon jenis polisiklik aromatik. Jumlah koloni

bakteri untuk setiap suspensi yang akan digunakan untuk mendegradasi limbah *sludge* minyak bumi dihitung dengan prosedur: dicontohkan suspensi isolat BS.

1. Disiapkan 6 buah tabung reaksi steril diberi label pengenceran $P.10^{-1}$, $P.10^{-2}$, $P.10^{-3}$, $P.10^{-4}$, $P.10^{-5}$, dan $P.10^{-6}$.
2. Tabung reaksi tersebut masing-masing diisi 900 μL larutan NaCl 0,9 % fisiologis.
3. Suspensi BS diencerkan dengan mengambil 100 μL dari labu takar 500 mL (prosedur a), kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi ($P.10^{-1}$), dikocok,
4. Lalu dipipet 100 μL suspensi BS dari tabung reaksi I dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi ($P.10^{-2}$), dan seterusnya sampai tabung reaksi ke $P.10^{-6}$.
5. Disiapkan pula 6 buah cawan petri steril masing-masing diberi label pengenceran $P.10^{-1}$, $P.10^{-2}$, $P.10^{-3}$, $P.10^{-4}$, $P.10^{-5}$, dan $P.10^{-6}$.
6. Suspensi BS dalam tabung reaksi setiap pengenceran dipipet sebanyak 100 μL , dan disebar pada cawat petri secara merata sesuai label pengenceran,
7. Setiap cawan petri yang telah berisi masing-masing 100 μL suspensi BS, ditambahakna masing-masing 15 mL media Marine Agar (MA), ditutup dan dibiarkan memadat, kemudian dibungkus dengan kertas dan diinkubasi 2x24 jam.
8. Jumlah koloni dihitung.

Catatan: Prosedur yang sama untuk menghitung jumlah koloni suspensi BF, BSF, BM dan KP ditentukan dengan mengikuti prosedur di atas.

Jumlah sel bakteri setiap jenis suspensi yang digunakan pada setiap cawan petri dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Rumus } N = \Sigma C / (V \times 1,1 \times d) \dots\dots\dots 4.1$$

Keterangan :

TBUD = Terlalu Banyak Untuk Dihitung (standar ≤ 300).

ΣC = jumlah sel bakteri yang dihitung pada 2 cawan petri berurutan (pengenceran 10^{-1} dan 10^{-2}) dengan jumlah minimum sel bakteri 30/cawan dan maksimum 300/cawan

V = volume inokulum yang dimasukan ke dalam setiap cawan petri

D = pengenceran pertama yang dilakukan

Pertumbuhan bakteri diamati dengan penghitungan jumlah sel bakteri setelah inkubasi 24 jam dengan menggunakan rumus :

$$BO = D \times C \dots\dots\dots 4.2$$

Keterangan

BO = jumlah sel bakteri/ml

D = faktor pengenceran

C = jumlah koloni bakteri

Gambar 4.3 Seri pengenceran dalam penentuan jumlah sel suspensi

Sesuai Gambar 4.3 di atas menunjukkan bagaimana langka dan prosedur dalam melakukan pengenceran bakteri hasil kultur untky selanjutnya dilakukan penentuan jumlah sel bakteri yang akan digunakan dalam biodegradasi untuk menurunkan daya racun limbah hidrokarbon

Setiap suspensi isolat tersebut di atas yang telah diketahui jumlah selnya, selanjutnya dipreparasi dan selanjutnya dianalisis kemampuan pertumbuhannya pada media limbah *slugde* minyak bumi (rantai alifatik atau aromatik), dilakukan dengan cara:

1. Diambil 15 mL limbah *slugde* minyak bumi semi cair asal PT. Chevron, Dumai-Riau, dipanaskan pada suhu $\pm 45^{\circ}\text{C}$, masukkan dalam 5 cawan petri berbeda kode A, B, C, D, dan E.
2. Dibuat 5 macam suspensi dari isolat hasil isolasi sibbon spongs misalnya dalam eksperimen ini menggunakan isolat spongs *Callyspongi* sp seperti pada prosedur diatas, Suspensi disiapkan, yakni; suspensi isolat 1 (BS), suspensi isolat 2 (BF), suspensi isolat campuran 1+2

(BSF), suspensi sel biomassa spons (BM) dan suspensi kontrol menggunakan *Pseudomonas* sp (KP). Setiap suspensi masing-masing diteteskan 3-5 tetes ke dalam media limbah *slugde* minyak bumi pada cawan petri kode A, B, C, D, dan E, kemudian diinkubasi pada suhu 30 °C selama 48 jam, Indikator analisis jika terdapat aktivitas pertumbuhan isolat bakteri dan biomassa sel spons akan teramati pada setiap cawan petri berupa pembentukan padatan, (Prosedur di atas dikerjakan aseptik). Cara di atas meruoakan metode sebagai uji awal dalam melihat aktivitas isolat spons dapat berkembang dan menunjukkan aktivitasnya.

4.8 Total Plate Count(TPC)

Penentuan *Total Plate Count* dimaksudkan untuk menunjukkan bebepa jumlah mikroorganisme yang digunakan dalam suatu sampel. Mikroorganisme ini bertindak sebagai degradator substrak. Substrak adalah objek yang terdegradasi. Prinsipnya untuk mengetahui mikroorganisme tersebut apakah dapat mendegradasi substrak (limbah) dapat dilakukan dengan menempatkan sejumlah sel mikroba tersebut pada media agar dan jika sel mikroba masih hidup dan dapat tumbuh pada medium agar, maka sel mikroba tersebut akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat diamati secara makroskopis tanpa menggunakan mikroskop. Salah satu metode yang dapat digunakan untuk menghitung jumlah mikroba adalah metoda hitungan cawan. Cara perhitungan jumlah mikroorganisme merupakan cara yang umum dilakukan di laboratorium mikrobiologi atau sejenisnya. Jika hasil perhitungan jumlah sel bakteri/mikroba yang ditempatkan pada media terkontaminasi substrak misalnya minyak bumi diketahui ada pertambahan signifikan maka merupakan indikator terjadinya proses biodegradasi minyak mentah. Jumlah mikroorganisme akan meningkat bila mikroorganisme tersebut mampu hidup dengan memanfaatkan substrat yang ada dalam senyawa hidrokarbon tersebut.

Total plate count dapat dilakukan dengan 2 cara, yaitu *Pour plate methode* (metode agar tuang) dan *surface or spread plate method* (metode permukaan atau metode sebar). Jumlah koloni yang diperoleh dinyatakan dengan *colony forming unit* (CFU). Ketepatan pemilihan dan penggunaan

metode ini dipengaruhi beberapa faktor, antaralain : (a) media dan kondisi inkubasi (ketersediaan oksigen, suhu dan waktu inkubasi), (b) kondisi sel mikroorganisme (*cedera atau injured cell*), (c) adanya zat penghambat pada peralatan atau media yang dipakai, atau yang diproduksi oleh mikroorganisme lainnya, (d) kemampuan pemeriksa untuk mengenal koloni, (e) peralatan, pelarut dan media yang kurang steril, ruang kerja yang tercemar, (f) pengocokan pada saat pengenceran yang kurang sempurna, g) kesalahan menghitung koloni dan perhitungan yang kurang tepat terhadap koloni yang menyebar atau yang sangat kecil.

Analisa Total Plate Count (TPC) dapat dilakukan dengan cara: Sebanyak 100 μL kultur isolat diambil dan dimasukkan ke dalam *microtube* yang berisi 900 μL larutan NaCl 0,95% (pengenceran 10^{-1}) yang sudah disiapkan sebelumnya. Kemudian diambil kembali 100 μL kultur dari pengenceran 10^{-1} dan ditambahkan ke dalam 900 μL larutan NaCl 0,95% (pengenceran 10^{-2}), dilanjutkan hingga seri pengenceran mencapai 10^{-9} . Lalu sebanyak 100 μL kultur isolat pada seri pengenceran 10^{-9} diinokulasikan pada media NA (*Nutrient Agar*) dalam cawan petri dengan metode sebar (*spread plate*) dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Setelah 24 jam, dilakukan perhitungan secara langsung untuk mengetahui jumlah isolat bakteri dalam sampel yang dinyatakan dalam *coloni forming unit* dalam 10^{-9} . Analisa TPC dilakukan duplo untuk masing-masing sampel.

Contoh cara perhitungan:

Banyaknya koloni pada cawan petri dengan pengenceran 10^{-1} = 168 koloni. Banyaknya koloni pada cawan petri dengan pengenceran 10^{-2} = 14 koloni. Masukkan data hasil perhitungan ke dalam rumus $N = \Sigma C / (V \times 1,1 \times d)$. dimana

Sehingga

$$N = (168 + 14) / (1 \times 1,1 \times 10^{-1}) = 182 / 0,11 = 1684$$

Lakukan pembulatan ke atas sehingga jumlah mikroorganisme dalam produk adalah 1700 per milliliter/ per gram.

4.9 Aplikasi Biomassa dan Mikrosimbion Spons

Pemanfaatan isolat simbiosis dan biomassa spons *Callyspongia* sp dilakukan untuk melihat kemampuan isolat-isolat spons tersebut dalam mengedradasi limbah Polisiklik Aromatik Hidrokarbon. Sampel PAH

dipilih karena limbah ini yang paling berbahaya diantara semua jenis limbah hidrokarbon sebagai objek terdegradasi karena merupakan limbah kategori bahan berbahaya dan beracun (B3) dan penggunaan suspensi isolat yang sebelumnya telah diketahui memiliki kemampuan aktivitas pada media limbah hidrokarbon yakni suspensi BS, BF dan BSF serta BM dan kontrol positif KP, dilakukan dengan cara: Ada 4 (empat) perlakuan yang dikerjakan untuk melihat kemampuan biodegradasi bakteri simbiosis dan biomassa spons *Callyspongia sp* dalam mendegradasi limbah PAH. Keempat perlakuan tersebut adalah:

- Perlakuan 1: masing-masing suspensi (5 jenis) bakteri/biomassa spons *Callyspongia sp* ditambah kurang lebih 5 mL limbah PAH konsentrasi 100 ppm, sampel limbah PAH, ditambah NPK dan di shaker;
- Perlakuan 2: masing-masing suspensi bakteri/biomassa spons *Callyspongia sp* ditambah kurang lebih 5 mL limbah PAH konsentrasi 100 ppm, sampel limbah PAH, ditambah NPK tidak di shaker;
- Perlakuan 3: masing-masing suspensi bakteri/biomassa spons *Callyspongia sp* ditambah kurang lebih 5 mL limbah PAH konsentrasi 100 ppm, sampel limbah PAH, tidak ditambah NPK dan di shaker;
- Perlakuan 4: masing-masing suspensi bakteri/biomassa spons *Callyspongia sp* ditambah kurang lebih 5 mL limbah PAH konsentrasi 100 ppm, sampel limbah PAH, tidak ditambah NPK dan tidak di shaker.

Preparasi sampel perlakuan 1 sampai 4 untuk melihat pengaruh pemberian nutrisi dan suplai oksigen terhadap kinerja mikrosimbiosis/biomassa spons dalam mendegradasi komponen hidrokarbon limbah PAH dilakukan dengan prosedur sama, sebagai berikut:

Perlakuan 1: disiapkan 40 vial steril tutup ulir volume 40 mL, dibagi dalam 5 kelompok, setiap kelompok terdiri 8 vial berdasarkan waktu kontak dan diberi label dengan kode berbeda. Semua vial diisi 10 mL *Stone Mineral Salt Solution (SMSS)* menggunakan spuit, kemudian vial kelompok I ditambah 10 mL suspensi BS, kelompok II ditambah 10 mL suspensi BF, kelompok III ditambah 10 mL BSF, kelompok IV ditambah

10 mL suspensi BM dan kelompok V ditambah 10 mL suspensi KP. Setiap vial ditambahkan 5 mL NPK 5 %, dengan demikian volume total campuran suspensi dalam vial mencapai 25 mL, (perlakuan 1 dan 2), volume total campuran dalam vial 20 mL, (perlakuan 3 dan 4) atau tidak ada penambahan NPK 5 %. setiap vial dimasukkan dalam kotak shaker inkubator dan dishaker pada putaran 100 rpm (perlakuan 1 dan 3). Catatan: pekerjaan perlakuan 1-4 dilakukan secara aseptik. Pelabelan mengikuti *flow chard* dalam Tabel 4.3 berikut:

Tabel 4.3 Flow chard preparasi sampel untuk proses biodegradasi

Waktu kontak (hari)	Jenis suspensi (mL)				
	BS	BF	BSF	BM	KP
0	BS.0	BF.0	BSF.0	BM.0	KP.0
5	BS.5	BF.5	BSF.5	BM.5	KP.5
10	BS.10	BF.10	BSF.10	BM.10	KP.10
15	BS.15	BF.15	BSF.15	BM.15	KP.15
20	BS.20	BF.20	BSF.20	BM.20	KP.20
25	BS.25	BF.25	BSF.25	BM.25	KP.25
30	BS.30	BF.30	BSF.30	BM.30	KP.30
35	BS.35	BF.35	BSF.35	BM.35	KP.35

Setelah dilakukan interaksi suspensi isolat bakteri simbion spons terhadap limbah PAH, selama masa interaksi dilakukan pengamatan parameter biodegradasi sebagai indikator terjadinya biodegradasi PAH oleh kerja isolat simbion spons *Callyspongia* sp dan biomasnya. Parameter biodegradasi selanjutnya secara rinci akan dibahas dalam bab berikutnya.

BAB 5 METODE BIODEGRADASI PENANGANAN LIMBAH HIDROKARBON

5.1 Lumpur Minyak Bumi

Lumpur minyak bumi dikenal dengan sebutan *sludge* mengandung banyak komponen kimia, baik yang termasuk golongan senyawa anorganik maupun senyawa organik. Komponen-komponen tersebut dapat menimbulkan masalah terhadap lingkungan apabila dilakukan pembuangan dan masuk ke dalam badan tanah, air atau perairan, karena sifatnya mengandung racun terhadap kebanyakan makhluk hidup atas kandungan kompoenen tertentu. Limbah *oil sludge* mengandung unsur-unsur logam berat, seperti Timbal, Kadmium, Kromium, Nikel dan logam berat lainnya dimana logam-logam tersebut merupakan komponen yang masuk dalam kategori Bahan Berbahaya dan Beracun (B3). Diantara semua unsur logam berat, Merkuri (Hg) menduduki urutan pertama dalam hal sifat racunnya jika dibandingkan dengan logam berat lainnya, kemudian diikuti oleh logam berat antara lain: Kadmium (Cd), Perak (Ag), Nikel (Ni), Timbal (Pb), Arsen (As), Kromium (Cr), Seng (Sn), Zink (Zn) dan masih terdapat logam lainnya namun dalam konsentrasi yang sangat kecil. *Oil sludge* adalah hasil samping dari pemurnian maupun pada penampungan bahan bakar minyak bumi. *Sludge* termasuk kategori limbah berbahaya dan beracun, sehingga penanganan dilakukan secara khusus dan jika dilakukan pengolahan memerlukan metode spesifik dan juga biaya yang mahal. *Oil sludge* berupa lumpur atau material semi padat berupa pasta yang berwarna coklat gelap hingga hitam kadang-kadang bercampur dengan tanah, kerikil, dan material lainnya. *Sludge* pada umumnya dihasilkan oleh pengendapan partikel-partikel halus pada minyak mentah, namun *sludge* dengan partikel yang lebih halus dan homogen merupakan hasil pengendapan dari penyimpanan bahan bakar minyak bumi (BBM). Berdasarkan Peraturan Pemerintah Nomor: 85 Tahun 1999, dikatakan bahwa limbah *sludge* minyak bumi dikategorikan dalam limbah berbahaya dan beracun. Sejumlah besar *sludge* minyak bumi yang dihasilkan berasal dari kilang minyak selama proses penyimpanan dan pada proses produksi. Lumpur minyak ini mengandung sejumlah hidrokarbon, jika dilakukan

penyimpanan, sebagian besar tangki penyimpanan dan kapal tanker akan terbentuk sedimen *sludge* hasil akumulasi dari waktu ke waktu. *Sludge* minyak bumi umumnya terakumulasi di kilang-kilang penyimpanan karena terjadinya kegagalan pompa, kegagalan desalter, minyak mengalir dari tangki, pada unit pengoperasian, pembersihan secara berkala tangki penyimpanan dan pipa pecah.

Hasil riset terkait dengan penanganan limbah minyak bumi berupa *sludge* minyak bumi dengan karakteristik limbah *sludge* minyak bumi (SMB) yang digunakan sebagai sampel disajikan dalam Tabel 5.1 berikut:

Tabel 5.1 Hasil Karakterisasi Sampel Limbah *Sludge* Minyak Bumi

No.	Uraian	Hasil Pengukuran	Referensi
1	Warna	hitam	PT. Chevron Pacifik Indo
2	Perwujudan	bentuk pasta	PT. Chevron Pacifik Indo
3	Titih leleh	45 °C	PT. Chevron Pacifik Indo
4	Kadar air	4,9769 %	Maks. 5 % (Pertamina)
5	Bahan tak larut	0,7845 %	Maks. 1 % (Pertamina)
6	Komp. hidro. Alifatik	85,98 %	Min. 80 % (Pertamina)
7	Komp. hidro. Aromatik	3,03 %	Maks. 5 % (Pertamina)
8	Komponen Lainnya	10,99 %	Maks.15 % (Pertamina)

Data tabel 5.1 yang dihasilkan telah sesuai dengan persyaratan PT. Pertamina dan PT. CPI untuk produk samping hasil pengolahan bahan bakar minyak bumi didasarkan pada karakteristik produksi minyak mentah Indonesia, sebagaimana termuat dalam kolom referensi Tabel 5.1. Secara umum limbah *sludge* minyak bumi hasil samping pengolahan mengandung komponen hidrokarbon alifatik minimal 80%, komponen hidrokarbon aromatik maksimal 5 %, komponen tidak larut maksimal 1 %, (komponen logam berat dan bahan anorganik lainnya) dan komponen lainnya tidak melebihi 15 % dari bobot total *sludge*, seperti kandungan zat organik dan zat non organik. Sampel minyak bumi di atas diperoleh dari PT. Cepron, yang melakukan aktivitas pengolahan minyak bumi di Kepulauan Riau, Dumai.

Tabel 5.2, berikut memperlihatkan komponen menguap dalam limbah *sludge* minyak bumi (SMB) berdasarkan suhu pemanasan, sebagai berikut:

Tabel 5.2 Bobot Menguap Limbah *Sludge* Minyak Bumi (SMB) berdasarkan Suhu Pemanasan

No.	Suhu Pemanasan (°C)	Bobot hilang (g)	Rataan bobot hilang (g)	Persen bobot hilang (%)
1.	50	0,604	0,602	11,996
		0,599		
2.	60	0,388	0,386	7,708
		0,385		
3.	70	0,662	0,665	13,253
		0,667		
4.	80	0,466	0,467	9,304
		0,467		
5.	90	0,326	0,327	6,255
		0,328		
6.	100	0,227	0,226	4,507
		0,225		
	Rataan bobot menguap setiap kenaikan suhu pemanasan 10 °C			8,837

Tabel 5.2 memperlihatkan bahwa ada komponen menguap mencapai rata-rata 8,837 %, setiap kenaikan suhu pemanasan 10 °C. Minyak bumi mengandung bahan organik dan komponen hidrokarbon ringan (jumlah atom karbon maksimal 10) yang mudah menguap dan senyawa organik lainnya mencapai 5 % dari bobot SMB. Karakteristik limbah *sludge* minyak bumi dan perhitungan kadar air, komponen tak larut, bobot menguap dan status kimia komponen hidrokarbon penyusun limbah SMB.

Komponen hidrokarbon yang terkandung dalam minyak bumi khususnya senyawa jenis polisiklik aromatik hidrokarbon berpotensi masuk ke dalam laut akibat adanya kecelakaan transportasi, sehingga mengalami tumpahan minyak di laut dan lingkungan lainnya dapat memberi ancaman serius bagi kehidupan laut karena bersifat beracun, karsinogenik, dan mutagenik. Potensi kontaminasi *sludge minyak bumi* dapat terjadi di hampir semua lini kegiatan perminyakan mulai dari eksplorasi hingga proses penyulingan dan berpotensi limbah yang dihasilkan dalam bentuk lumpur minyak. Komponen utama kontaminan lumpur minyak bumi adalah senyawa hidrokarbon alifatik dan aromatik bersifat hidrofobik, mudah melekat pada bahan organik untuk membentuk partikel padat berupa polutan mikro yang persisten di lingkungan. Kontaminasi *sludge* minyak bumi telah dikelola secara fisik, kimiawi dan secara biologis berkelanjutan,

tetapi kurang efisien. Oleh karena itu, studi pencegahan kontaminasi baru-baru ini beralih ke penggunaan mikroorganisme yang dapat mengurangi senyawa toksik hidrokarbon menjadi senyawa yang lebih sederhana dengan mengurangi toksisitasnya dengan mereduksi sifat racun yang terkandung di dalamnya. Pelibatan mikroorganisme dalam degradasi limbah hidrokarbon dikenal dengan istilah bioteknologi dalam metode biodegradasi.

Proses biodegradasi memerlukan adanya aktivitas mikroba yang merupakan organisme yang berpotensi dapat digunakan untuk mendegradasi limbah minyak bumi, dimana proses tersebut berlangsung secara fermentasi dengan melibatkan peran dan kerja enzim. Beberapa bakteri laut diketahui mampu mengubah komponen hidrokarbon menjadi komponen sederhana dengan memanfaatkan senyawa karbon sebagai sumber energi. Biodegradasi hidrokarbon oleh komunitas mikroba tergantung pada komposisi komunitas dan respon adaptif mikroorganisme terhadap keberadaan polutan seperti bahan hidrokarbon. Laju dan mekanisme laju biodegradasi hidrokarbon alifatik berbeda dengan laju dan mekanisme biodegradasi senyawa aromatik. Komponen penyusun alifatik yang disebabkan oleh minyak pada umumnya memiliki rantai karbon yang panjang berupa fraksi berat, sedangkan hidrokarbon aromatik bersifat toksik terhadap biota dan mikroorganisme laut. Namun, beberapa penelitian menunjukkan bahwa pada kondisi optimal biodegradasi senyawa kompleks hidrokarbon alifatik dan aromatik dapat dijalankan dengan kecepatan yang bervariasi dan mekanisme yang berbeda-beda. Komponen minyak bumi hidrokarbon menjadi sumber karbon untuk pertumbuhan mikroorganisme, sehingga komponen ini dapat terdegradasi yang diawali dengan terjadinya reaksi oksidasi ditandai dengan masuknya molekul oksigen dalam struktur aromatik hidrokarbon membentuk beberapa jenis senyawa organik. Jenis bakteri yang diketahui sebagai biodegradator hidrokarbon adalah *Enterobacter* sp., *Bacillus* sp., *Clostridium* sp., *Pseudomonas* sp., *Aeromonas* sp dan *Citrobacter* sp. Diketahui pula bahwa beberapa jenis bakteri tersebut dapat membentuk simbiosis dengan spons dan beberapa material lainnya seperti mangrove, air laut terkontaminasi hidrokarbon. Simbiosis bakteri dengan spons yang berupa biomassa dalam bentuk spikula. Spons adalah hewan metazoa multiseluler, yang merupakan pengumpulan berpori dan penyaringan, sehingga mereka dapat bertindak

sebagai inang bagi mikroorganisme untuk bersarang di dalam tubuh spons. Mikroorganisme Simbion spons memiliki peran dalam sistem spongeologis, yang keduanya merupakan sumber makanan oleh mikroorganisme atau spons yang saling menguntungkan. Mikrosimbion spons menjadikan spons sebagai inang untuk kelangsungan hidup dan spons sendiri memanfaatkan mikrosimbion sebagai pertahanan untuk beradaptasi dan hidup dalam lingkungan yang tercemar.

Limbah hidrokarbon minyak bumi mengandung fraksi alkana, yaitu salah satu komponen minyak yang mudah terdegradasi oleh bakteri daripada fraksi aromatik, atau fraksi asfaltik dan fraksi lainnya karena alkana lebih larut dalam air dan dapat berdifusi ke dalam membran sel bakteri. Ada tiga faktor utama yang menentukan laju dan mekanisme biodegradasi hidrokarbon oleh komponen mikroorganisme, yaitu: 1) jenis komponen hidrokarbon sebagai substrat, termasuk jenis, konsentrasi dan toksisitas, 2) jenis degradasi mikroorganisme, termasuk jenis, jumlah koloni, nutrisi, waktu, dan kemampuan beradaptasi mikroorganisme pendegradasi, 3) lingkungan, terdiri dari suhu, pH, tekanan, suplai oksigen, salinitas dan ketersediaan nutrient yang dibutuhkan. Beberapa wilayah perairan laut termasuk pesisir yang ada di Indonesia merupakan lingkungan ekstrem bagi kehidupan biota laut termasuk spons karena terkontaminasi oleh berbagai zat beracun. Meskipun diketahui bahwa spons dapat berfungsi untuk mengurangi toksisitas minyak bumi khususnya jenis aromatik, namun harus dalam perbandingan yang rasional antara populasi spons dengan volume limbah hidrokarbon kontaminan karena proses ini mengikuti atau menyerupai proses reaksi enzimatik dengan adanya substrak dalam hal ini komponen hidrokarbon terhadap enzim dalam perbandingan yang proporsional. Spons laut merupakan salah satu jenis biota dalam laut yang dapat berperan besar dalam pengelolaan dan penanganan limbah PAH, yang dewasa ini hampir pasti tidak dapat ditemukan hewan lain sejenis spons yang dapat berperan dalam upaya mengurangi bahaya dari polutan PAH. Hingga saat ini telah diidentifikasi 12 spesies spons laut, dimana empat spesies diantaranya diperoleh dari sekitar Pantai Melawai Balikpapan, yaitu area sekitar kilang minyak Balikpapan dan berbatasan langsung dengan pelabuhan laut Balikpapan, sedangkan delapan spesies spons lainnya diperoleh dari sekitar Pulau Kodingareng Keke wilayah

Administratif Pemkot Makassar dan masuk dalam kawasan gugusan kepulauan Spermonde yang saat ini disekitar area tersebut sedang dibangun *Center Point of Indonesia* (CPI). Spons-spons temuan ini mengarah dan mengantarkan kita pada pemahaman bahwa spons dan bakteri yang saling bersimbiosis, ternyata dapat beradaptasi dengan lingkungan ekstrim terkontaminasi tumpahan minyak bumi.

5.2 Metode Penanggulangan Pencemaran Minyak Bumi dalam Lingkungan Laut

Sumber kerusakan lingkungan yang mengancam kelestarian sumberdaya pesisir dan lautan di Indonesia yaitu: pencemaran berbagai jenis kontaminan, seperti tumpahan minyak bumi mengandung zat beracun hidrokarbon PAH dan logam berat, sampah plastik dan polutan lainnya. Eksploitasi sumber daya alam yang berlebihan cenderung menimbulkan efek kurang baik terhadap alam karena akan menghasilkan produk-produk ikutan yang justru berpotensi menjadi sumber penceraan yang apabila masuk ke lingkungan dalam kapasitas besar, maka dapat menimbulkan pergeseran siklus dan mengarah kepada pembentukan keseimbangan baru yang mengancam kehidupan dan kelestarian alam. Abrasi pantai dan bencana alam lainnya merupakan bentuk tidak langsung dari adanya pergeseran dalam lingkungan karena terdapat bagian lain yang berupaya membentuk keseimbangan baru.

Minyak bumi yang masuk ke lingkungan laut dari berbagai sumber mengalami transformasi dan secara alamiah akan berproses dengan mekanisme tertentu dengan melibatkan material lainnya dalam proses fisika, kimia, dan biologi seperti penyebaran (*Spreading*) minyak bumi dan produk destilatnya yang terbuang ke laut dapat menyebar dengan cepat karena dipengaruhi oleh angin, gelombang dan arus laut, penguapan (*evaporasi*), merupakan proses fisika dimana proses ini tergantung titik didih dan berat molekul minyak bumi yang masuk ke laut, Pelarutan hubungannya dengan komposisi, struktur, dan berat molekul senyawa yang masuk ke dalam laut, emulsifikasi minyak tersuspensi ke dalam air yang disebabkan oleh banyaknya komponen minyak bumi tidak dapat larut oleh air laut, degradasi oleh mikroba sebagai proses alami yang sangat penting bagi penguraian minyak bumi oleh mikroorganisme setelah mengalami proses fisika dan kimia, pembentukan sedimentasi, minyak bumi

memerlukan kerapatan yang cukup untuk mengendap membentuk sedimen.

5.3 Biodegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi

Degradasi adalah perubahan yang mengarah kepada kerusakan di muka bumi. Degradasi berarti penurunan kualitas maupun perusakan lahan. Degradasi dapat disebabkan oleh beberapa faktor, salah satunya adalah pencemaran lingkungan, salah satunya pencemaran limbah cair yang disebabkan oleh manusia itu sendiri. Oleh karena itu, untuk menyeimbangkan tatanan ekosistem kehidupan diperlukan sistem pengolahan limbah yang mudah diterapkan, sederhana dan murah, seperti pembersihan, injeksi dan bioremediasi. Bioremediasi berasal dari dua kata yaitu *bio* dan remediasi yang dapat diartikan sebagai proses dalam menyelesaikan masalah. Bioremediasi merupakan pengembangan dari bidang bioteknologi lingkungan dengan memanfaatkan proses biologi dalam mengendalikan pencemaran. Bioremediasi mempunyai potensi untuk menjadi salah satu teknologi lingkungan yang bersih, alami, dan paling murah untuk mengantisipasi masalah-masalah lingkungan. Penggunaan mikroorganisme (khamir, fungi, dan bakteri) dapat berfungsi sebagai agen bioremediator.

Degradasi limbah minyak bumi dapat dilakukan dengan memanfaatkan mikroorganisme seperti bakteri, beberapa khamir, jamur, sianobakteria, dan alga biru. Mikroorganisme ini mampu menguraikan komponen minyak bumi karena kemampuannya mengoksidasi hidrokarbon dan menjadikan hidrokarbon sebagai donor elektronnya. Mikroorganisme ini berpartisipasi dalam pembersihan tumpahan minyak dengan mengoksidasi minyak bumi menjadi gas karbon dioksida (CO_2). Reaksi berikut adalah contoh bakteri pendegradasi minyak bumi akan menghasilkan bioproduct seperti asam lemak, gas CO_2 , N_2 , H_2O , O_2 , H_2 , CH_4 , dan CO , surfaktan, dan biopolimer yang dapat meningkatkan porositas dan permeabilitas material reservoir formasi klastik dan karbonat apabila bakteri ini menguraikan minyak bumi.

Proses pengolahan limbah cair oleh mikroba dalam mendegradasi senyawa kimia yang berbahaya di lingkungan sangat penting. Dalam proses degradasinya, mikroba menggunakan senyawa kimia tersebut untuk

pertumbuhan dan reproduksinya melalui berbagai proses reaksi oksidasi. Saat terjadi bioremediasi, enzim yang diproduksi oleh mikroba memodifikasi senyawa kimia berbahaya dengan mengubah struktur kimianya biasa disebut biotransformasi. Pada banyak kasus, biotransformasi berujung pada biodegradasi, di mana senyawa kimia terdegradasi, mengubah struktur kimia menjadi senyawa intermediat kompleks dan akhirnya menjadi metabolit yang tidak berbahaya dan tidak beracun. Mikroba dalam mengolah senyawa kimia berbahaya dapat berlangsung apabila adanya mikroba yang sesuai dan tersedia kondisi lingkungan yang ideal tempat tumbuh mikroba seperti suhu, pH, nutrient, dan jumlah oksigen. Pengaturan dan tatacara serta persyaratan teknis pengolahan limbah dan tanah terkontaminasi oleh minyak bumi secara biologis. Bioremediasi dapat dilakukan dengan menggunakan mikroba lokal. Pada umumnya, di daerah yang tercemar jumlah mikroba yang ada tidak mencukupi untuk terjadinya bioproses secara alamiah.

Biodegradasi dapat diartikan sebagai proses penguraian oleh aktivitas mikroba, yang mengakibatkan transformasi struktur suatu senyawa sehingga terjadi perubahan integritas molekuler, proses transformasi ini melibatkan enzim dalam reaksi enzimatik melalui jalur fermentasi. Dalam proses biodegradasi terjadi konversi yang lengkap dari bahan-bahan kimia yang kompleks menjadi produk-produk yang termineralisasi menjadi senyawa sederhana, seperti air (H_2O) dan karbondioksida (CO_2). Teknologi bioremediasi dalam menstimulasi pertumbuhan mikroba dilakukan dengan dua cara yaitu:

1. Biostimulasi adalah Penggunaan nutrien atau substrat seperti pupuk dan suplemen pertumbuhan untuk menstimulasi mikroorganisme yang dapat melakukan bioremediasi yang dilakukan dengan memperbanyak dan mempercepat pertumbuhan mikroba yang sudah ada di daerah tercemar dengan cara memberikan/mengubah kondisi lingkungan pertumbuhan agar sesuai yang diperlukan oleh mikroorganisme yang sudah ada, misalnya dengan penambahan nutrien dan oksigen. Jika jumlah mikroba yang ada dalam jumlah sedikit, maka harus ditambahkan mikroba dalam konsentrasi yang tinggi sehingga bioproses dapat terjadi. Mikroba yang ditambahkan adalah mikroba yang sebelumnya diisolasi dari lahan tercemar (proses indigen) dengan melalui proses adaptasi, kemudian

perbanyak/kultur dan dikembalikan ke tempat asalnya untuk memulai bioproses. Namun sebaliknya, jika kondisi yang dibutuhkan tidak terpenuhi, mikroba akan tumbuh dengan lambat atau mati. Secara umum kondisi yang diperlukan ini tidak dapat ditemukan di area yang tercemar.

2. Bioaugmentasi adalah Penambahan kultur bakteri atau enzim pada media yang terkontaminasi yang merupakan penambahan produk mikroba komersial ke dalam limbah cair untuk meningkatkan kerja dan efisiensi dalam pengolahan limbah secara biologi. Hambatan atas penerapan metode ini, yaitu sulit untuk mengontrol kondisi area yang tercemar agar mikroba dapat berkembang dengan optimal. Selain itu mikroba perlu beradaptasi dengan lingkungan tersebut. Teknik bioaugmentasi dapat dimodifikasi dengan penambahan nutrisi tertentu, misalnya penambahan NPK dan nutrisi lainnya yang sejenis mengandung unsur-unsur yang dibutuhkan oleh bakteri uji.
3. Biofilter adalah metode bioremediasi dengan cara memisahkan gas organik dengan melewati udara melalui kompos atau tanah yang mengandung mikroorganisme yang mampu mendegradasi gas. Teknik ini digunakan untuk memisahkan komponen volatil (VOC's) dari udara.
4. Bioreaktor adalah salah satu metode bioremediasi dilakukan dengan penanganan terhadap bahan yang terkontaminasi pada tanki besar yang mengandung organisme atau enzim.
5. Bioventing adalah salah satu teknik remediasi yang mirip dengan biostimulasi. Teknik ini dilakukan dengan menyemburkan oksigen ke dalam tanah untuk menstimulasi pertumbuhan mikroorganisme yang diharapkan dapat bekerja dalam meremediasi limbah.
6. Pengomposan adalah teknik yang dilakukan dengan mencampur bahan terkontaminasi dengan kompos yang mengandung mikroorganisme bioremediasi dilakukan dengan cara campuran bahan remediasi diinkubasi pada kondisi aerobik dan temperatur hangat (diatas suhu kamar).
7. Landfarming adalah salah satu teknik remediasi dengan penggunaan teknik farming tilling dan soil amandement untuk mendorong pertumbuhan mikroorganisme bioremediasi di lokasi terkontaminasi.

Biodegradasi adalah metode pengembangan dari cara biologi dengan melakukan modifikasi tertentu sesuai dengan kondisi dan hasil yang

diharapkan dengan melibatkan mikroorganisme yang merupakan suatu proses yang penting artinya bagi rehabilitasi lingkungan yang tercemar oleh minyak bumi maupun produk-produknya, dengan memanfaatkan aktivitas mikroba untuk menguraikan minyak pencemar menjadi bentuk lain yang lebih sederhana, tidak berbahaya dan diharapkan memiliki nilai tambah bagi lingkungan. Kecepatan biodegradasi hidrokarbon berbeda-beda tergantung pada jenis dan komponen penyusunnya dari limbah hidrokarbon apakah golongan alifatik (rantai ringan sampai berat) atau hidrokarbon aromatik (monosiklik, disiklik, trisiklik hingga polisiklik).

Proses biodegradasi senyawa hidrokarbon sampai sempurna tidak mungkin dilakukan hanya oleh satu jenis mikroba, tetapi selalu dilakukan oleh suatu kumpulan mikroba yang saling berinteraksi secara sinergik dalam bentuk konsorsium, apalagi jika proses tersebut dilakukan untuk mengatasi pencemaran minyak di lingkungan pada area yang luas dan tidak terisolasi seperti tumpahan minyak bumi karena kecelakaan transportasi kapal tanker atau karena kebocoran, akibat pencucian kapal tanker di lautan. Pilihan cara biologis atau biodegradasi menggunakan mikroorganisme dalam mendegradasi cemaran hidrokarbon, merupakan salah satu cara yang tepat, lebih efektif dan hampir tidak ada pengaruh sampingan pada lingkungan karena tidak menghasilkan racun ataupun blooming (peledakan jumlah bakteri), demikian pula hasil penguraian komponen beracun dari hidrokarbon merupakan komponen organik sederhana. Mekanisme Biodegradasi hidrokarbon minyak bumi oleh bakteri menggunakan limbah hidrokarbon minyak bumi sebagai sumber karbon dan energi. Proses biodegradasi hidrokarbon minyak bumi akan menghasilkan CO_2 , H_2O dan biomassa sel. Selama aktivitas biodegradasi berlangsung, yaitu terjadi destruksi molekul hidrokarbon oleh bakteri, dimana bakteri akan mengeluarkan metabolit-metabolit atau zat berperilaku enzim ke dalam media, sehingga media mengalami penurunan pH atau media menjadi lebih asam, surfaktan dan gas yang dapat mempengaruhi lingkungannya diantaranya keasaman media dimana terjadi penurunan pH dan surfaktan dapat menurunkan tegangan antar muka media, proses ini disebut biodegradasi. Berikut ini disajikan bagaimana mekanisme biodegradasi hidrokarbon menggunakan bakteri disajikan dalam Gambar 5.1, berikut:

Gambar 5.1 Mekanisme biodegradasi lumpur minyak bumi (sludge) dengan menggunakan biodegradator bakteri. (a) hidrokarbon terlarut; (b) kontak langsung bakteri dengan *sludge*; (c) kontak antara butiran *sludge* yang terdispersi dengan bakteri; dan (d) terjadi peningkatan kelarutan hidrokarbon akibat diproduksinya biosurfaktan sebagai hasil kerja bakteri dalam mendestruksikan *sludge*.

Mikroorganisme yang digunakan dalam mendegradasi komponen limbah hidrokarbon biasanya akan mati seiring dengan habisnya minyak mentah di sekitar perairan tersebut, sehingga terkait dengan kekuatan booming bakteri tertentu di perairan tidak perlu dikuatirkan, karena memang sifat dari bakteri tersebut telah sesuai dengan lingkungannya, sehingga dengan nutrisi limbah hidrokarbon, maka lingkungan habitat mikroorganisme tersebut akan berubah dan menyebabkan bakteri tersebut akan mati dengan sendirinya. Metode biodegradasi merupakan bagian dari rekayasa biologi yang sering kita sebut bioteknologi, merupakan cara penanganan yang efektif dan efisien dalam menangani limbah hidrokarbon, karena proses ini tidak meninggalkan residu atau dengan kata lain produk hasil biodegradasi tidak lagi beracun dan dapat menyatu dengan air. Kelebihan lainnya dari metode ini adalah membutuhkan biaya penanganan yang lebih murah, lebih aman dan tidak merusak lingkungan, dibandingkan cara fisik-kimia, merode inilah yang kita kenal sebagai salah satu teknologi hijau dan ramah lingkungan. Beberapa jenis bakteri yang dapat digunakan dalam metode biodegradasi komponen hidrokarbon khususnya komponen alifatik rantai lurus dalam minyak bumi diantaranya adalah *Nocardia*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, khamir tertentu, dan jamur, yang menggunakan hidrokarbon untuk pertumbuhannya. Penggunaan hidrokarbon alifatik jenuh merupakan proses aerobik (menggunakan

oksigen). Tanpa adanya O_2 , limbah hidrokarbon ini tidak didegradasi oleh mikroba (kecuali bakteri pereduksi sulfat).

Penurunan tegangan antar muka media oleh adanya surfaktan menyebabkan minyak terdispersi, sehingga terjadi penambahan luas permukaan dan sekaligus memperbesar kontak permukaan antara bakteri dan minyak sehingga akan terjadi peningkatan biodegradasi (proses destruksi molekul) hidrokarbon minyak bumi. Selain itu, biomassa yang dihasilkan merupakan akumulasi massa sel yang sebagian besar tersusun oleh molekul protein yang kita sebut zat “x” yang berkarakter sebagai enzim. Protein ini dapat meningkatkan kesuburan tanah tercemar karena merupakan sumber pupuk nitrogen bagi lahan dimana proses tersebut terjadi. Sebelum biodegradasi berlangsung, hidrokarbon minyak bumi masuk ke dalam sitoplasma bakteri. Ada dua akibat yang timbul dari mekanisme masuknya hidrokarbon ke dalam sitoplasma. *Pertama*, hidrokarbon menjadi mudah larut dan yang *kedua*, terjadi gaya adhesi antara butiran hidrokarbon dengan cairan dalam sel. Proses selanjutnya, bakteri memproduksi enzim yang dapat mendegradasi hidrokarbon minyak bumi. Enzim mendegradasi senyawa tersebut dengan mengeksploitasi kebutuhan energi bakteri. Pada tahapan ini, pertumbuhan bakteri ditandai dengan peningkatan ukuran sel dan pembelahan sel, mengakibatkan keluarnya enzim yang bergabung dengan substansi membentuk senyawa kompleks enzim-substrak, kemudian terurai menjadi produk lain. Enzim tidak habis dalam reaksi tersebut tetapi dilepaskan kembali untuk reaksi selanjutnya dengan substansi lainnya dan proses ini dapat berjalan kontinyu selama kondisi kebutuhan untuk proses ini tersedia dan mencukupi dalam aktivitasnya. Proses ini terjadi berulang-ulang sampai semua substansi yang tersedia terpakai atau habis, dengan catatan sel-sel bakteri masih ada dalam populasi yang cukup.

Tingkat kemudahan hidrokarbon minyak bumi didegradasi oleh bakteri tergantung kepada struktur dan bobot molekulnya. Secara umum kemampuan biodegradasi naik dengan kenaikan panjang rantai karbon. Selama proses biodegradasi, terjadi perombakan fraksi parafinik, naftenik dan aromatik. Parafinik atau komponen alifatik merupakan fraksi yang paling mudah didegradasi sedangkan naftenik dan aromatik masuk dalam kategori PAH lebih sulit terdegradasi. Kemampuan bakteri mendegradasi

hidrokarbon minyak bumi berbeda-beda. Panjang rantai optimum untuk didegradasi antara 10-20 rantai karbon dan untuk jenis *sludge* biasanya mencapai panjang rantai karbon antara 21-35. Hidrokarbon dengan panjang rantai kurang dari 9 sulit didegradasi karena senyawa ini bersifat toksik tetapi beberapa bakteri tertentu khususnya golongan bakteri methanotrop dapat mendegradasinya meskipun dalam persentasi kinerja yang rendah. Beberapa hasil percobaan menunjukkan bahwa: (1) hidrokarbon alifatik umumnya mudah didegradasi daripada aromatik, (2) hidrokarbon alifatik rantai lurus umumnya lebih mudah terdegradasi daripada rantai bercabang. Adanya introduksi cabang ke molekul hidrokarbon dapat menghambat proses biodegradasi, (3) hidrokarbon jenuh lebih mudah terdegradasi daripada yang tidak jenuh. Adanya ikatan dobel atau tripel antar karbon menghambat proses biodegradasi, karena introduksi rantai rangkap memerlukan waktu lebih lama yang diawali dengan adisi rantai rangkap dibandingkan rantai tunggal yang langsung masuk pada tahap pemutusan ikatan, dan (4) hidrokarbon alifatik rantai panjang lebih mudah didegradasi daripada rantai pendek karena pada rantai panjang akan semakin banyak lokasi aktif *side* yang dapat diintroduksi oleh bakteri.

Salah satu upaya dalam menemukan jenis-jenis bakteri yang dapat mendegradasi komponen hidrokarbon adalah dengan melakukan skrining beberapa jenis bakteri yang didahului dengan isolasi dari berbagai sumber potensial seperti air laut tercemar hidrokarbon, mangrove yang tumbuh pada daerah pesisir atau daerah yang dianggap terkontaminasi dengan limbah hidrokarbon, diisolasi dari lumpur minyak bumi termasuk isolasi bakteri potensial dari spons. Mikroorganisme yang di peroleh dari spons yang terbukti mampu mendegradasi hidrokarbon dikenal dengan istilah mikrosimbion-karbonoklastik yang berpotensi sebagai fungsi degradasi komponen aromatik hidrokarbon dalam limbah. Rumusan ini memberi dampak positif pada tiga aspek pembangunan, yakni: penganeekaragaman fungsi kekayaan alam laut khususnya spons; penanggulangan limbah hidrokarbon khususnya limbah polisisiklik aromatik hidrokarbon (PAH), dan fungsi penyelamatan sekaligus pembangunan lingkungan hijau. Hal ini sejalan dengan komitmen menjaga kualitas lingkungan agar tetap dapat memberi daya dukung maksimal untuk pembangunan masa datang, mengingat diketahui bahwa Indonesia merupakan salah satu negara

produsen minyak bumi meskipun dalam 20 tahun terakhir volume produksi kecenderungan menurun hingga pada posisi produksi minyak bumi Indonesia dewasa ini ± 810.000 barel per hari, sehingga sangat potensial menghasilkan produk sampingan berupa limbah minyak bumi dari usaha eksplorasi dan eksploitasi minyak bumi. Produksi minyak bumi ini membuat aktivitas eksplorasi tambang minyak banyak dilakukan, namun sayang bahwa produksi emas hitam (julukan minyak mentah) senantiasa menghasilkan produk ikutan, yakni lumpur minyak bumi (sludge) yang diketahui kemudian komposisi *sludge* sedikitnya mengandung dua jenis bahan berbahaya bukan hanya pada dampak buruk pada lingkungan bahkan mengancam kehidupan biota khususnya dilaut dan lokasi kegiatan eksplorasi minyak bumi termasuk manusia itu sendiri baik secara langsung maupun dampak karena siklus dalam system hidrologi kehidupan. Berikut ini disajikan mekanisme biodegradasi bakteri terhadap limbah hidrokarbon rantai lurus, sebagaimana pada Gambar 5.2 berikut:

Gambar 5.2 Reaksi oksidasi n-alkana oleh bakteri pendegradasi hidrokarbon

Gambar 5.2 menunjukkan bahwa degradasi komponen alkana oleh bakteri melalui reaksi oksidasi dengan adanya enzim oksigenase menghasilkan alkohol, dan jika reaksi oksidasi berlanjut, alkohol akan berubah menjadi keton, selanjutnya berubah menjadi senyawa ester dan senyawa tersebut dapat pecah menjadi alkohol dan asam asetat dengan masuknya molekul air. Senyawa tersebut selanjutnya dapat berubah menjadi senyawa yang lebih sederhana menghasilkan CO_2 , sisa H_2O , O_2 , demikian pula alkohol dapat berubah menjadi senyawa aldehid lalu menjadi

asam karboksilat dan pada tahap berikutnya masuk dalam siklus β -oksidasi berubah menjadi komponen sederhana seperti CO_2 , sisa air, O_2 sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 5.2, di atas.

Berdasarkan kemudahan penguraian komponen minyak bumi, diketahui ada dua macam komponen dalam minyak bumi, yang dibagi berdasarkan kemampuan mikroorganisme yang dapat menguraikannya, yaitu komponen minyak bumi yang mudah diuraikan oleh mikroorganisme dan komponen yang sulit didegradasi oleh mikroorganisme. Komponen minyak bumi yang mudah didegradasi oleh bakteri merupakan komponen terbesar dalam minyak bumi atau mendominasi, yaitu alkana bersifat lebih mudah larut dalam air dan dapat terdifusi ke dalam membran sel bakteri, Namun terdapat komponen minyak bumi yang sulit didegradasi yang merupakan komponen yang jumlahnya dalam komposisi minyak bumi lebih kecil dibanding komponen alifatik yang lebih sulit didegradasi. Hal ini menyebabkan bakteri pendegradasi komponen ini berjumlah lebih sedikit dan tumbuh lebih lambat karena kalah bersaing dengan pendegradasi alkana yang memiliki substrat lebih banyak.

Isolasi bakteri biasanya memanfaatkan komponen minyak bumi yang masih ada setelah pertumbuhan lengkap, bakteri pendegradasi yang telah menyesuaikan dengan lingkungan komponen minyak bumi yang mudah didegradasi. Terdapat tiga cara transport hidrokarbon ke dalam sel bakteri secara umum yaitu: 1) interaksi sel dengan hidrokarbon yang terlarut dalam fase air, umumnya kelarutan hidrokarbon oleh proses fisika sangat rendah sehingga tidak dapat mendukung kelangsungan dari mikroba tersebut; 2) kontak langsung (perlekatan) sel dengan permukaan tetesan hidrokarbon yang lebih besar daripada sel mikroba dan pengambilan substrat dilakukan difusi atau transport aktif. Perlekatan terjadi karena adanya biosurfaktan pada membrane sel bakteri; 3) Interaksi sel dengan tetesan hidrokarbon yang telah teremulsi atau tersolubilisasi oleh bakteri.

Alur pendegradasian hidrokarbon alifatik jenuh oleh mikroorganisme meliputi oksidasi molekuler (O_2) sebagai sumber reaktan dan penggabungan satu atom oksigen ke dalam hidrokarbon teroksidasi. Senyawa ini digunakan sebagai donor elektron secara aerobik oleh mikroorganisme seperti bakteri dari genus *Pseudomonas*. Reaksi biodegradasi hidrokarbon alifatik berbeda dengan aromatik. Proses reaksi

hidrokarbon alifatik jenuh adalah proses aerobik (menggunakan oksigen) dengan mekanisme oksidasi molekuler (O_2), sebagai sumber reaktan dan penggabungan satu atom oksigen ke dalam hidrokarbon teroksidasi. Reaksi lengkap dapat di lihat pada Gambar 5.3 berikut:

Gambar 5.3 Reaksi biodegradasi hidrokarbon alifatik

Sedangkan untuk mekanimse biodegradasi aromatik dapat dilihat pada Gambar 5.4 berikut :

Gambar 5.4 Contoh degradasi hidrokarbon aromatik secara enzimatik menggunakan bakteri.

Metabolisme senyawa tersebut di atas oleh bakteri diawali dengan pembentukan *Protocatechuate* atau *catechol*. Kedua senyawa ini selanjutnya didegradasi menjadi senyawa yang dapat masuk ke dalam siklus Krebs (siklus asam sitrat), yaitu suksinat, asetil KoA, dan piruvat. Reaksi degradasi senyawa hidrokarbon fraksi aromatik oleh bakteri mirip dengan mekanisme yang ditempuh pada biodegradasi alifatik yang diawali

dengan pembentukan *Protocatechuate* atau *catechol* atau senyawa yang secara struktur berhubungan dengan senyawa ini. Kedua senyawa ini selanjutnya didegradasi menjadi senyawa yang dapat masuk ke dalam siklus Krebs (siklus asam sitrat), yaitu suksinat, asetil KoA, dan piruvat. Berikut adalah beberapa bakteri hidrokarbonoklastik atau kelompok bakteri yang dapat mendegradasi polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) diantaranya: *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Alcaligenes*, *Brevibacterium*, *Brevibacillus*, dan *Bacillus*. Kemampuan sel mikroorganisme mendegradasi komponen hidrokarbon limbah minyak bumi dapat berlangsung maksimal apabila adanya ketersediaan nitrogen sebagai nutrisi dan suplai oksigen.

Contoh berikut adalah mekanisme reaksi dengan jalur metabolik biodegradasi fenantren menjadi naftalena terhadap bakteri tertentu sangat berhubungan satu sama lain, sehingga pembentukan senyawa turunan naftalen dalam hal ini naftalenol pada metabolisme fenantren dapat terjadi. Gambar 5.5, di bawah menunjukkan proses biodegradasi fenantren menjadi 1-naftalenol oleh bakteri *Pseudomonas* sp strain Kalp3b22.

Gambar 5.5 Biodegradasi Fenantren Menjadi 1-naftalenol oleh Bakteri *Pseudomonas* sp strain Kalp3b22.

Faktor pembatas biodegradasi berupa kemampuan sel mikroorganisme untuk melanjutkan pertumbuhannya sampai minyak bumi terdegradasi secara sempurna bergantung pada suplai oksigen yang mencukupi dan nitrogen sebagai sumber nutrisi. Keaktifan mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon juga dipengaruhi oleh kondisi lingkungan seperti temperatur dan pH serta waktu kontak. Kondisi lingkungan yang tidak sesuai menyebabkan kinerja mikroba menurun bahkan tidak aktif bekerja mendegradasi minyak bumi, sedangkan kondisi internal degradasi adalah: jenis bakteri pendegradasi, jumlah sel bakteri, bakteri dalam bentuk konsorsium atau tunggal, jenis limbah hidrokarbon

yang didegradasi, volume hidrokarbon sebagai substrak, daya racun limbah hidrokarbon, dan faktor lainnya yang dapat berpengaruh. Sebagai contoh, penambahan nutrisi anorganik seperti fosfor dan nitrogen untuk area tumpahan minyak meningkatkan kecepatan bioremediasi secara signifikan.

5.4 Biodegradasi Senyawa Organik

Biodegradasi senyawa organik pada prinsipnya sama dengan biodegradasi limbah hidrokarbon, yang berbeda hanya pada objek yang didegradasi dan mungkin adanya modifikasi-modifikasi tertentu yang dilakukan yang bertujuan untuk meningkatkan daya degradasi terhadap objek degradasi, dimana hidrokarbon juga merupakan senyawa organik, karena itulah biodegradasi hidrokarbon juga dapat diartikan sebagai biodegradasi senyawa organik. Biodegradasi adalah proses dimana komponen organik mengalami perombakan oleh enzim dihasilkan oleh organisme hidup. Biodegradasi merupakan proses perombakan senyawa organik kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana oleh aktifitas mikroorganisme. Bahan organik bisa didegradasikan secara aerob dengan oksigen atau secara anaerob tanpa oksigen. Mikroba yang dimanfaatkan sebagai pendegradasi harus mampu menghasilkan enzim oksigenase yang dapat mengoptimalkan hubungan permukaan sel mikroba dengan bahan pencemar melalui interaksi hidrofobik. Lebih lanjut dijelaskan bahwa biodegradasi bertujuan untuk menghilangkan/mengurangi dampak (pencemaran) yang mungkin terjadi dari tumpahan minyak.

Minyak bumi termasuk limbah bahan berbahaya dan beracun. Pencemaran minyak bumi dapat berasal dari tumpahan dan cecceran minyak bumi selama kegiatan pengeboran, produksi, pengilangan, dan transportasi minyak bumi sehingga mengakibatkan gangguan pada keseimbangan ekosistem air, tanah, maupun laut. Salah satu kontaminan yang sulit diurai adalah senyawa hidrokarbon yang berasal dari minyak bumi atau lumpur minyak bumi. Senyawa ini dapat bersifat toksik apabila terakumulasi dalam tanah.

Komponen minyak bumi yang mudah didegradasi oleh bakteri merupakan komponen terbesar dalam minyak bumi, yaitu alkana khususnya rantai pendek, (senyawa organik sederhana) yang bersifat lebih mudah larut dalam air dan terdifusi ke dalam membran sel bakteri. Isolat bakteri pendegradasi komponen minyak bumi ini biasanya merupakan

pengoksidasi alkana normal. Komponen minyak bumi yang sulit didegradasi merupakan komponen yang jumlahnya lebih kecil dibanding komponen yang mudah didegradasi. Hal ini menyebabkan bakteri pendegradasi komponen ini berjumlah lebih sedikit dan tumbuh lebih lambat karena kalah bersaing dengan pendegradasi alkana yang memiliki substrat lebih banyak. Isolasi bakteri biasanya memanfaatkan komponen minyak bumi yang masih ada setelah pertumbuhan lengkap bakteri pendegradasi komponen minyak bumi yang mudah didegradasi.

Frakasi alkana rantai pendek, dengan atom karbon C kurang dari 9 bersifat racun terhadap mikroba dan mudah menguap menjadi gas. Frakasi n-alkana rantai sedang dengan jumlah atom karbon C = 10-24 paling cepat terurai. Semakin panjang rantai karbon alkana menyebabkan makin sulit terurai. Rantai C bercabang pada alkana mengurangi kecepatan peruraian, karena atom C tersier atau kuarter mengganggu mekanisme biodegradasi, sehingga biasanya reaksi atau proses degradasi pada kondisi ini akan berjalan lebih lambat. Pendekatan yang banyak dilakukan dalam biodegradasi senyawa hidrokarbon adalah umumnya dilakukan dengan dua pendekatan, yakni bioaugmentasi dan biostimulasi

5.4.1 Efektivitas Biodegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi

Proses degradasi yang dilakukan oleh bakteri secara alami memerlukan waktu yang relatif lama, karena pengaruh faktor-faktor tertentu, sehingga kecepatan biodegradasi minyak oleh bakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti konsentrasi bahan pencemar, konsentrasi biomassa, keragaman populasi, aktivitas enzim, ketersediaan oksigen, suhu yang optimal untuk biodegradasi yaitu sekitar 30-40 °C, pH yang berkisar antara 6,5–7,5 dan ketersediaan nutrisi untuk perkembangan bakteri seperti nitrogen dan fosfor.

Secara fisika, pemulihan lingkungan yang tercemar oleh minyak bumi memerlukan biaya yang sangat tinggi untuk pengangkutan dan pengadaan energi guna membakar materi pencemar. Penanggulangan secara fisik umumnya digunakan pada langkah awal penanganan, terutama apabila minyak belum tersebar ke mana-mana yang diarahkan untuk tujuan menghambat penyebaran limbah minyak. Metode kimia dengan 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. Teknologi penanggulangan cemaran limbah minyak bumi terus dikembangkan dan berusaha untuk mencari teknologi yang paling mudah, murah dan tidak menimbulkan dampak lanjutan, termasuk analisis biaya dan kelestarian lingkungan. Bioremediasi salah satu metode lebih murah dan berwawasan lingkungan dibandingkan dengan metode pemulihan lingkungan baik secara fisika maupun kimiawi.

Konsorsium bakteri uji jenis karbonoklastik (penggunaan bersama dan bersama-sama dalam waktu bersamaan), seperti kombinasi bakteri *Pseudomonas*, dan *Bacillus* mampu mendegradasi hidrokarbon *sludge* minyak dalam persentase lebih tinggi jika dibandingkan penggunaan bakteri tunggal dari salah satu pada kedua jenis di atas.. Persentase degradasi tertinggi pertumbuhan konsorsium terbaik terjadi pada perlakuan dengan penambahan 50 % *sludge* minyak bumi dan pupuk NPK sebanyak 30 % dari *sludge* minyak bumi yang ditambahkan. Penurunan konsentrasi hidrokarbon terbesar terjadi pada C₁₄, yaitu semula kelimpahan relatifnya terhadap pristane sebesar 85,28 % menjadi 43,11 %. Penelitian lain menggunakan mikroba yang hidup dalam lingkungan tercemar hidrokarbon menyimpulkan bahwa mikroba dapat hidup karena menggunakan hidrokarbon sebagai sumber energinya. Metode biodegradasi dengan model konsorsium bakteri karbonoklastik direkomendasikan untuk digunakan dalam menangani area atau lingkungan tercemar limbah hidrokarbon, oleh karena itu diperlukan investigasi masif dalam menemukan jenis bakteri dari berbagai sumber yang dapat mendegradasi hidrokarbon khususnya jenis PAH.

5.4.2 Peranan enzim dalam proses degradasi limbah hidrokarbon

Bakteri hidrokarbonoklastik adalah jenis mikroorganisme yang mampu mendegradasi senyawa hidrokarbon terdiri dari jenis bakteri dan jamur. Dari seluruh mikroba, bakteri memiliki jumlah yang paling banyak dan merupakan kumpulan yang aktif secara biokimia. Bakteri yang mampu menggunakan hidrokarbon sebagai sumber karbon adalah kelompok bakteri heterotrof, autotrof, dan bakteri belerang. Organisme yang telah diketahui memiliki kemampuan mendegradasi hidrokarbon terutama

adalah mikroorganisme seperti jamur, ragi, dan bakteri. Genus bakteri yang paling sering ditemui sebagai pendegradasi minyak adalah *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Flavo bacterium*, *Nocardia*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium*, *Micrococcus* dan *Vibrio*. Bakteri-bakteri ini dapat diisolasi dari beberapa sumber seperti air laut, lumpur minyak bumi, tanah yang telah terkontaminasi hidrokarbon, genangan air yang mengandung belerang, juga dapat diisolasi dari mangrove, dan spons.

Hidrokarbon merupakan senyawa hidrofob. Bakteri hidrokarbonoklastik menggunakan hidrokarbon sebagai sumber energi dan sumber karbon. Kemampuan bakteri dalam memecahkan rantai hidrokarbon diawali dengan pelarutan hidrokarbon dalam fase cair oleh surfaktan yang dihasilkan mikroorganisme tersebut. Distribusi bakteri hidrokarbonoklastik terhadap jenis hidrokarbon berhubungan dengan alur paparan kontaminan tertentu terhadap lingkungan. Lingkungan yang telah tercemar minyak memiliki persentase mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon lebih tinggi dibandingkan dengan lingkungan yang tidak tercemar minyak, hal ini disebabkan karena mikroorganisme yang tumbuh pada lingkungan tercemar hidrokarbon adalah jenis mikroorganisme yang telah sesuai dengan lingkungan pertumbuhannya, sehingga mikroorganisme tersebut akan lebih kuat dalam bertahan hidup karena susunan basa nitrogen sebagai sistem pembawa sifat dari mikroba telah tersusun sedemikian rupa cocok dengan lingkungan terkontaminasi senyawa karbon. Pada lingkungan tidak tercemar minyak kemungkinan keberadaan mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon kurang dari 0.1 % dan pada lingkungan tercemar minyak 100% adalah mikroorganisme berpotensi dapat mendegradasi hidrokarbon. Beberapa golongan bakteri menguraikan hidrokarbon dengan jalan mengubahnya menjadi senyawa yang lebih sederhana. Mikroba ini memenuhi kebutuhan sumber karbon dan energinya dengan cara menggunakan bahan-bahan seperti hidrokarbon yang kelarutannya dalam air sangat kecil. Beberapa riset tentang biodegradasi senyawa hidrokarbon menggunakan bakteri, telah dikenal golongan-golongan bakteri yang memiliki kemampuan dalam mendegradasi senyawa tersebut. Pentingnya mikroorganisme yang mampu melakukan proses dekomposisi bahan pencemar pada tanah, sedimen dan

lingkungan perairan sudah banyak diteliti. Mikroba tersebut mampu menggunakan bahan pencemar untuk memenuhi kebutuhan energi, pertumbuhan dan reproduksi. Kemampuan mikroorganisme dalam mendegradasi hidrokarbon dalam minyak bumi merupakan suatu proses adaptasi dan dipengaruhi oleh kondisi lingkungan dan jenis spesies dimana mikroba tersebut melangsungkan kehidupannya.

Konsorsium bakteri merupakan campuran populasi bakteri dalam komunitas yang mempunyai hubungan kooperatif, komensal, dan mutualistik. Anggota komunitas yang mempunyai hubungan berasosiasi sehingga lebih berhasil mendegradasi hidrokarbon dibandingkan bila dikerjakan masing-masing dalam bentuk bakteri tunggal. Tidak ada satupun spesies mikroba tunggal yang mampu mendegradasi semua komponen yang terdapat dalam suatu kelompok hidrokarbon. Oleh karena itu, degradasi yang lengkap sangat ditentukan oleh peran bersama dari berbagai spesies mikroba. Dalam banyak hal diketahui bahwa tantangan saat ini dalam penerapan teknologi biodegradasi dengan degradator adalah bakteri terletak pada belum adanya teknologi yang dapat diterapkan dalam mengumpulkan berbagai jenis bakteri yang mampu mendegradasi hidrokarbon khususnya jenis PAH dalam bentuk formulasi cair atau bentuk kristal yang *mobile* dan dengan mudah dapat dikultur dilokasi atau area tercemar, sehingga lebih efisien dan lebih cepat dalam penggunaannya dengan hasil biodegradasi pada tingkat dan kategori tinggi. Berdasarkan hal tersebut diketahui bahwa dalam biodegradasi hidrokarbon menggunakan bakteri, diperlukan suatu konsorsium bakteri, khususnya bakteri karbonoklastik yaitu bakteri-bakteri yang dapat mendegradasi komponen hidrokarbon, sehingga degradasi komponen hidrokarbon dapat dilakukan secara keseluruhan.

Mikroorganisme memainkan peran kunci dalam proses biodegradasi dilingkungan, meskipun demikian bahwa sesungguhnya bukan bakteri tersebut yang secara langsung mendegradasi hidrokarbon, tetapi bakteri yang menghasilkan jenis zat tertentu yang berperilaku/berkarakter seperti enzim. Salah satu contoh peranan enzim ekstraselular mikroorganisme ini memainkan peran kunci dalam proses biodegradasi suatu polimer. Enzim ini berperan dalam mengubah polimer rantai panjang menjadi bentuk yang lebih sederhana melalui siklus Krebs (β -

oksidasi) dan selanjutnya menjadi molekul yang lebih kecil sehingga mudah untuk diabsorpsi dan dimetabolisme di dalam mikroorganisme, Biota laut dan mikroorganisme memainkan peran penting dalam proses biologis dan siklus material di lingkungan laut, tanpa terkecuali spons dan mikroorganisme simbiosis. Diantara bakteri yang telah diuji cobakan dan terbukti dapat mendegradasi komponen hidrokarbon baik dalam skala mikrokosmos sebagaimana tampak dalam Tabel 5.3, berikut:

Tabel 5.3 Bakteri pendegradasi hidrokarbon minyak bumi berdasarkan Desai dan Vyas

Jenis Hidrokarbon	Jenis Mikroorganisme konsorsium
Hidrokarbon jenuh (rantai tunggal)	<i>Arthrobacter sp.</i> , <i>Acinetobacter sp.</i> , <i>Candida sp.</i> , <i>Pseudomonas sp.</i> , <i>Rhodococcus sp.</i> , <i>Streptomyces sp.</i> , <i>Bacillus sp.</i>
Hidrokarbon aromatik monosiklik	<i>Pseudomonas sp.</i> , <i>Bacillus sp.</i> , <i>B. stereothermophilus</i> , <i>Vibrio sp.</i> , <i>Nocardia sp.</i> , <i>Corynebacterium sp.</i> , <i>Achromobacter sp.</i>
Polisiklik aromatik hidrokarbon	<i>Arthrobacter sp.</i> , <i>Bacillus sp.</i> , <i>Burkholderia cepacia</i> , <i>Pseudomonas sp.</i> , <i>Mycobacterium sp.</i> , <i>Xanthomonas sp.</i> , <i>Phanerochaete chrysosporium</i> , <i>Anabena sp.</i> , <i>Alcaligenes</i>
Resins	<i>Pseudomonas sp.</i> , <i>Vibrionaceae</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Moraxella sp.</i>

Enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme bekerja dengan cara memodifikasi polutan beracun dengan mengubah struktur kimia polutan tersebut, sebuah peristiwa yang disebut biotransformasi. Pada banyak kasus, biotransformasi berujung pada biodegradasi, dimana polutan beracun terdegradasi, strukturnya menjadi tidak kompleks dan akhirnya menjadi metabolit yang tidak berbahaya dan tidak beracun. Pada kasus ini enzim yang bekerja dinamakan enzim regulatori. Dalam pengertiannya, enzim regulator adalah enzim yang berada dalam jalur reaksi biokimia yang bekerja bersama-sama dalam rangkaian metabolisme. Enzim ini berada pada konsentrasi yang tinggi (V_{maks} rendah), sehingga aktivitas enzim ini dipengaruhi oleh tingginya konsentrasi substrat.

Biodegradasi hidrokarbon oleh suatu mikroba sangat tergantung pada kumpulan serta keberadaan dari hidrokarbon itu sendiri. Proses degradasi minyak bumi, hidrokarbon yang terkandung di dalam minyak bumi digunakan oleh mikroba sebagai substrat yang diawali dengan dipecahkannya molekul hidrokarbon melalui proses oksidasi yang melibatkan oksigen sebagai akseptor elektron. Oksigen ini berperan dalam metabolisme seluler yaitu sebagai reaktan pada proses anabolisme dan katabolisme. Enzim yang berperan dalam proses degradasi hidrokarbon adalah enzim oksigenase. Monooksigenase mengkatalis masuknya satu atom ke dalam senyawa organik. Oksigen yang bergabung dengan senyawa organik dalam bentuk hidroksil (-OH) dan satu atom oksigen lainnya membentuk molekul air. Aktivitas enzim monooksigenase sebagai katalis masuknya gugus OH dalam senyawa organik disebut juga enzim hidroksilase. Proses penguraian hidrokarbon dapat dipercepat oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* maka diperlukan enzim laktase. Mekanismenya yaitu dengan menambahkan enzim laktase, maka kekuatan ikatan polimer akan berkurang dengan demikian bakteri *Pseudomonas aeruginosa* mampu untuk mencerna komponen hidrokarbon lebih cepat.

5.5 Aplikasi Metode Biodegradasi Hidrokarbon limbah minyak bumi

Beberapa hasil penelitian berkaitan degradasi hidrokarbon telah dilakukan, baik penggunaan mikroba yang ada pada daerah tercemar maupun mikroba yang diisolasi dari biota laut yang mengalami kontaminasi hidrokarbon. Proses degradasi dilakukan dengan berbagai metode seperti pemberian nutrisi tertentu untuk menghidupkan lebih banyak bakteri, pengaturan beberapa parameter berpengaruh pada peningkatan kapasitas degradasi hidrokarbon maupun penggunaan bakteri konsorsium yang diduga memiliki kemampuan mendegradasi hidrokarbon minyak bumi. Berikut adalah kerangka kerja dalam aplikasi biodegradasi hidrokarbon terhadap limbah minyak bumi disajikan dalam bentuk skema sebagai berikut:

Gambar 5.6 Kerangka kerja aplikasi biodegradasi hidrokarbon

Skema di atas adalah alur yang menggambarkan kepada kita dalam melakukan pengembangan dan modifikasi dalam metode biodegradasi hidrokarbon dengan menggunakan sumber mikroorganisme egradator dari spons laut.

BAB 6 PARAMETER BIODEGRADASI HIDROKARBON

6.1 Urgensi Biodegradasi Polutan Hidrokarbon

Biodegradasi adalah proses dirobohnya bahan organik (hidrokarbon) oleh zat berkarakter enzim yang dihasilkan oleh organisme hidup/mikroorganisme seperti bakteri, fungi dan jamur, meskipun yang telah banyak dilakukan adalah penggunaan bakteri sebagai biodegradator. Istilah yang sering digunakan dan lebih umum dalam kaitannya dengan ekologi lingkungan, seperti pada pengelolaan sampah dan lingkungan proses perbaikan mutu lingkungan (*bioremediation*). Istilah yang digunakan dalam ekologi untuk menggambarkan proses biokimia yang cenderung mentransformasikan zat organik yang dihasilkan secara alami tidak langsung dari fotosintesis dalam zat anorganik. Biodegradasi memainkan arti pembalikan dengan fotosintesis dan proses biosintesis berikutnya yang menimbulkan atau menghasilkan biomassa.

Dasar penerapan metode bioremediasi dengan menggunakan mikroorganisme di latar-belakangi oleh pemahaman bahwa semua mikroorganisme mampu mengonsumsi substrat dari alam untuk pertumbuhan dan metabolismenya. Mikroorganisme ini seperti bakteri, protista dan jamur potensial untuk digunakan sebagai biomaterial dan fungsi sebagai degradator molekul kompleks dengan memasukkan bahan tersebut ke dalam metabolismenya. Kemampuan untuk mendegradasi bahan alam khususnya limbah hidrokarbon sangat tergantung pada karakteristik dari enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme. Produksi enzim oleh mikroorganisme juga ternyata ditentukan oleh karakteristik dan tingkat paparan (limbah) yang dialami oleh mikroorganisme tersebut, jenis paparan, sifat racun kontaminan termasuk kondisi lingkungan terpapar. Produksi enzim oleh mikroorganisme merupakan respon dan bentuk perlawanan bakteri terhadap predator, agar dapat bertahan hidup pada lingkungan ekstrim tersebut. Pada prinsipnya minyak bumi dapat didegradasi oleh mikroorganisme karena kemampuannya menghasilkan enzim yang selektif terhadap minyak

bumi sebagai limbah yang mengancam hidupnya, dimana limbah minyak bumi tersebut bertindak sebagai substrat.

Kajian terhadap metode biodegradasi menarik untuk dikaji lebih dalam karena pada berbagai kasus biasanya menghasilkan cerita yang baru dari adanya pengungkapan fakta-fakta reaksi yang ditampilkan oleh kondisi, hasil dan produk yang tidak selamanya sama dengan proses biodegradasi sejenis untuk bahan yang relatif sama. Artinya bahwa biodegradasi yang terjadi terhadap hidrokarbon misalnya oleh suatu jenis bakteri/mikroorganisme biasanya menempuh jalur dan mekanisme tertentu yang sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan dimana biodegradasi berlangsung. Kajian biodegradasi sangat penting untuk lingkungan yang mempersyaratkan keharusan bebas dari sampah dan limbah untuk membuat jalan bagi kehidupan baru. Pohon-pohon, tanaman, alga, dan semua organisme fotosintetik lainnya, berkat matahari mampu menyerap karbon dioksida di atmosfer dan menggunakannya untuk mensintesis gula, molekul organik sebagai dasar bagi semua pembentukan zat organik yang banyak di biosfer.

Penerapan bioremediasi sebagai teknik pengolahan limbah sudah semakin berkembang terutama karena alasan biaya operasional yang relatif murah dibandingkan dengan teknologi lain. PT Caltex Pacific Indonesia, Exxon Mobil Oil, Unocol, Vico dan Total telah menerapkan teknologi ini. Di PT Caltex Pacific Indonesia, bioremediasi dengan mengoptimalkan kondisi tanah untuk pertumbuhan bakteri indigenous menghasilkan konsentrasi TPH mencapai 1% dalam waktu 4 bulan. Pengolahan limbah menggunakan teknik bioremediasi pada prinsipnya dapat diterapkan di Indonesia selama pelaksanaan kegiatan pengolahannya memenuhi persyaratan teknis dan aman bagi lingkungan. Konsentrasi TPH akhir yang diperkenankan pada pengolahan limbah minyak bumi melalui teknik bioremediasi adalah 10.000 ppm.

Pada pengolahan minyak bumi senantiasa menghasilkan produk sampingan berupa limbah minyak bumi (*oil sludge*) kebanyakan dalam perwujudan berupa pasta atau lumpur (*sludge*) dihasilkan 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, tetapi juga

mengandung bakteri, virus, minyak dan lemak, serta nutrisi seperti nitrogen, fosfor, logam berat, dan senyawa organoklorin. 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 Hidrocarbon (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 baik pada pemahaman aspek kuantitatif dan kualitatif, tergantung pada sifat dan jumlah polutan, kondisi lingkungan ambien dan musim, serta komunitas mikroorganisme indigenous. Pemilihan yang tepat jenis mikroorganisme mendukung keberlangsungan proses degradasi limbah minyak bumi dalam waktu singkat dapat menjadi salah satu solusi dalam menyelamatkan dan mempertahankan kualitas lingkungan atau cara yang tepat dan dibutuhkan dalam meremediasi lingkungan agar fungsi dari lingkungan tersebut tetap dapat memberikan daya dukung dalam pemenuhan kebutuhan manusia. Nilai saturasi (kejenuhan) substrat terkecil dapat diperoleh melalui pemilahan bakteri indigenous pada konsentrasi substrat kecil sehingga laju afinitas mikroorganisme terhadap substrat besar, dengan demikian kinetika biodegradasi dapat berjalan lebih cepat yang terpenting adalah bagaimana mengaplikasikan mikroorganisme potensial pada proses bioremediasi atau biodegradasi.

6.2 Pengaruh Cemar Minyak Bumi terhadap Ekologi Lingkungan

Melalui rantai makanan, aliran zat dan energi yang melewati atau mengalir dalam tanaman (produsen) ke herbivora (konsumen primer) dan dari tahap ini ke karnivora (konsumen sekunder). Mekanisme dalam tahapan ini dapat berhenti dengan cepat, namun, jika tidak ada pilihan terbalik, dalam artian bahwa yang membebaskan karbon dari bahan organik yang mati. Sehingga sirkulasi materi juga mungkin berhenti atau tetap berjalan namun akan memiliki dan menempu mekanisme yang lain. Kemudian proses biodegradasi dalam keseimbangan alam, sama dengan

proses fotosintesis yang hasilnya sama dan pada saat yang sama. Biodegradasi dilakukan oleh dekomposer, mikroorganisme (jamur, bakteri, protozoa) yang tumbuh pada bahan organik mati, atau produk limbah dari ekosistem. Pada sudut pandang ilmu kimia, degradasi adalah oksidasi senyawa organik. Proses oksidasi yang paling penting adalah respirasi yang menghubungkan dan memungkinkan pelepasan karbon dioksida dan penutupan siklus biogeokimia karbon.

Aktivitas eksplorasi dan eksploitasi dalam industri perminyakan (pengeboran, pengilangan, proses produksi dan transportasi) umumnya menghasilkan limbah minyak dan terjadinya tumpahan minyak yang tidak dapat dihindari dari dinamika tersebut. Tumpahan minyak tersebut terjadi baik di tanah maupun perairan yang merupakan kontaminan yang memberi dampak menurunnya kualitas lahan dan perairan tersebut. Limbah hidrokarbon dari aktivitas industri perminyakan dan tumpahan tersebut akan semakin meningkat sejalan dengan meningkatnya aktivitas industri perminyakan di lapangan. Demikian pula pada penanganan yang tidak tepat dan profesional dapat menyebabkan kontaminan yang dapat akhirnya merupakan bagian dari pencemaran lingkungan dan dampak jangka panjangnya adalah berbahaya bagi makhluk hidup. Metode penanganan limbah hidrokarbon secara konvensional biasanya dilakukan dengan membenamkan dalam tanah dan juga sebagian dari yang membakarnya. Usaha penanggulangan pencemaran minyak bumi secara konvensional hasilnya kurang memuaskan, misalnya dengan menyimpan atau membuang bahan pencemar limbah minyak bumi dengan menanamkannya dalam tanah tidak menyelesaikan masalah. Limbah hidrokarbon tersebut dapat meresap ke dalam badan air tanah, secara berlebihan akan merembes dan tersirkulasi masif kesegala arah dan mencemari perairan, sedangkan pada metode penanganan bahan tersebut dengan pembakaran justru berpotensi pada terjadinya atau mengakibatkan pencemaran udara.

Alternatif lain yang dapat digunakan dalam penanggulangan pencemaran minyak bumi adalah teknologi bioremediasi yaitu menggunakan bakteri yang dalam aktivitasnya mampu memanfaatkan hidrokarbon minyak bumi sebagai sumber karbon dan energi kemudian mengubahnya menjadi produk degradasi senyawa organik sederhana

seperti CO_2 , H_2O mungkin gas CH_4 dan biomassa sel. Teknologi ini lebih ramah lingkungan, efektif dan ekonomis. Penerapan teknologi bioremediasi terhadap lingkungan yang tercemar minyak bumi diharapkan dapat mengurangi konsentrasi limbah minyak yang ada dan membantu usaha pengendalian kerusakan lingkungan melalui teknologi bioremediasi dan biodegradasi. Kepmen No. 04/1995, menjelaskan bahwa pengolahan limbah minyak bumi secara biologi harus dapat menurunkan konsentrasi hidrokarbon sampai pada batas minimal yang dipersyaratkan. Teknik bioremediasi dapat dilakukan dengan menggunakan bakteri indigenous maupun menginokulasikan bakteri terpilih dari tempat lain. Banyak ekosistem perairan yang menyimpan dan mengandung potensi bakteri yang dapat digunakan untuk bioremediasi, misalnya pada ekosistem mangrove, perairan terkontaminasi hidrokarbon khususnya sekitar kilang minyak atau pelabuhan, air dan pada tanah tercemar oleh tumpahan minyak bumi.

Kelompok bakteri yang mampu mendegradasi minyak bumi juga dapat ditemukan dalam ekosistem air hitam. Pengamatan tentang mikroorganisme dalam fungsi remediasi lingkungan yang sering disebut biodegradasi penting untuk dikembangkan karena berbagai kelompok bakteri mampu hidup pada kondisi ekstrim lingkungan tersebut. Karakteristik minyak bumi yang tidak larut dalam air dan terjerap pada partikel tanah dapat mengurangi bioavailabilitasnya terhadap bakteri sehingga menjadi faktor pembatas laju biodegradasi karena dilain pihak aktivitas bakteri dalam biodegradasi berlangsung pada antar muka air-minyak dalam larutan tanah. Salah satu cara untuk mengatasi hal tersebut dengan mengaplikasikan surfaktan, molekul yang mempunyai bagian hidrofilik dan hidrofobik yang mampu menurunkan tegangan antar muka air dan minyak. Pengaruh tidak langsung terjadi karena adanya kompetisi penggunaan nutrisi mineral dan oksigen antara akar tumbuhan dan mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon dan mendorong terbentuknya kondisi anaerobik sehingga dihasilkan senyawa fitotoksik seperti H_2S . Selain itu, minyak dengan sifatnya yang hidrofobik dapat menyebabkan struktur tanah menjadi buruk sehingga membatasi kemampuannya dalam menyerap air dan udara. Kontaminasi hidrokarbon minyak bumi di permukaan tanah menyebabkan

terhambatnya perkembangan tumbuhan akibat sirkulasi dan paparan sinar matahari terhalang oleh lapisan minyak di permukaan, demikian pula aktivitas mikroba tanah akan terganggu dengan adanya racun dari minyak tersebut akibatnya mikroba tanah berusaha untuk mempertahankan kondisi tersebut dengan mengadakan adaptasi internal melalui mutase basa nitrogennya, meskipun tidak semua mikroba tanah dapat melakukan hal tersebut, sehingga juga dapat terjadi mikrasi mikroba tanah ataupun dilakukan adaptasi dengan lingkungan baru dalam waktu yang cukup lama.

Contoh lokasi yang tercemar limbah minyak bumi, yakni pada lokasi kilang minyak Mathura-India, dimana area yang tercemar limbah minyak bumi terlihat tidak ada vegetasi yang tumbuh. Ditambahkan bahwa bahwa tanaman umbi-umbian seperti ubi jalar dan singkong sangat sensitif terhadap hidrokarbon minyak bumi sedangkan mangga, pisang dan tanaman yang mempunyai rhizoma lebih mampu beradaptasi. Contoh di atas menunjukkan bahwa pengaruh racun atas tumpahan minyak bumi yang menutup permukaan menyebabkan mikroba tanah tersebut tidak dapat menjalankan aktivitas seperti sebelumnya dan memberi efek negatif pada tidak tumbuhnya vegetasi tanah yang menyebabkan tanah tersebut menjadi gersang dan bahkan berbahaya bagi kehidupan manusia karena sifat dari limbah minyak bumi sangat mungkin mengandung senyawa aromatik yang karsinogenik dan mutagenik.

Pengaruh pencemaran minyak bumi terhadap hewan Invertebrata tanah mempunyai kandungan lipid yang tinggi dan laju metabolisme yang cepat sehingga sangat sensitif terhadap toksisitas kontak dari minyak bertitik didih rendah. Hidrokarbon dengan titik didih yang lebih tinggi dan kurang fitotoksitasnya dapat menyumbat stomata mikroartropoda sehingga menghambat proses respirasi. Hal tersebut dijadikan dasar dalam mengendalikan larva nyamuk dengan menggunakan minyak. Hewan amfibi lebih mudah terkena dampak negatif dari minyak karena kulitnya yang permeabel. Pada percobaan dengan menggunakan beberapa konsentrasi minyak, telur dapat menetas menjadi berudu tanpa dipengaruhi oleh konsentrasi minyak. Tetapi, perkembangan berudu terhambat pada konsentrasi minyak yang tinggi

bahkan pada konsentrasi > 100 mg/l tidak ada berudu yang mengalami metamorfosa menjadi katak dewasa.

Tumpahan minyak bumi juga menyebabkan terganggunya perkembangbiakan burung karena lingkungan menjadi tidak sesuai untuk penetasan telur dan terdapatnya unsur beracun. Beberapa percobaan menunjukkan bahwa minyak yang diberikan pada kulit telur *mallard* (*Anas platyrhynchos*) menyebabkan telur tidak menetas karena terdapat komponen aromatik yang toksik bagi telur. Pada dosis $10\ \mu\text{l}$, embrio menjadi abnormal yang ditandai dengan berubahnya bentuk paruh, susunan tulang dan bulu burung yang tidak lengkap.

6.3 Parameter Bioremediasi

Banyak indikator biodegradasi yang dapat memberi petunjuk bahwa telah terjadi proses bioremediasi pada suatu area mengandung zat kontaminan berbahaya dan beracun. Jika proses biodegradasi terjadi pada area yang tercemar *sludge* minyak bumi dengan melibatkan bakteri spesifik dan mengakibatkan daya racun dan sifat racun dari kontaminan tersebut berkurang, maka proses ini disebut proses biodegradasi hidrokarbon.

Hidrokarbon disebut senyawa yang terdiri dan tersusun unsur atom karbon (C) dan atom hidrogen (H) sedemikian rupa hingga terbentuk pertautan kombinasi dan komposisi tetap yang stabil. Hidrokarbon tersusun atas rantai karbon dan atom-atom hidrogen yang saling berikatan membentuk kombinasi rantai. Istilah tersebut juga digunakan dalam mendefinisikan hidrokarbon alifatik.

Gambar 6.1 Perubahan yang terjadi pada penyebaran minyak di permukaan tanah

Identifikasi biodegradasi terdiri atas beberapa parameter yang ditentukan berdasarkan kondisi beberapa proses biodegradasi yang terjadi dan teramati dalam media degradasi. Indikator degradasi sebenarnya juga dapat diprediksi dari data hasil analisis fenotip atau hasil uji biokimia bakteri, karena berbagai eksperimen atau uji coba biodegradasi hidrokarbon menggunakan degradator bakteri simbiosis yang telah dilakukan, ditemukan adanya persesuaian antara reaksi-reaksi positif bakteri simbiosis pada media uji biokimia sama dengan hasil biodegradasi yang diperoleh atau teramati dalam media degradasi.

6.3.1 Kerapatan Optik

Kerapatan optik (*optical density*) disingkat OD adalah diartikan sebagai kekeruhan yang tampak dalam media/reaktor biodegradasi yang teramati dengan spektrofotometer. Kekeruhan ini berasal dari sel-sel bakteri simbiosis dalam bentuk suspensi yang ada dalam media degradasi telah beradaptasi dengan lingkungannya, sehingga bakteri tersebut dapat melangsungkan hidupnya lebih lanjut ditandai dengan terjadinya peningkatan ukuran sel bakteri dan diikuti dengan bertambahnya jumlah sel bakteri akibat bakteri-bakteri tersebut mampu membelah diri. Akibatnya media degradasi bertambah keruh, kekeruhan itulah yang kemudian disebut kerapatan optik. Nilai kerapatan optik ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer berdasarkan waktu (hari) interaksi antara suspensi bakteri simbiosis sebagai objek pendegradasi (degradator) dengan limbah hidrokarbon sebagai objek terdegradasi (substrak) dalam reaktor. Nilai kerapatan optik media degradasi meningkat seiring dengan bertambahnya waktu kontak kedua material tersebut, meskipun dipahami bahwa kerapatan optik tidak selamanya meningkat, hal ini sangat ditentukan oleh kemampuan bakteri-bakteri tersebut beradaptasi dengan lingkungan baru dimana bakteri tersebut berada pada lingkungan terkontaminasi hidrokarbon.

Dicontohkan aplikasi mikrosimbiosis spons dalam metode biostimulan terlihat terjadinya kepadatan sel bakteri yang menunjukkan jumlah dan ukuran sel bertambah akan berbanding lurus dengan nilai OD yang terukur. Peningkatan nilai OD media degradasi biasanya mulai tampak setelah 1 hari masa kontak antara bakteri degradator dan bahan terdegradasi berlangsung dan meningkat signifikan terlihat pada hari

ketiga, keempat hingga hari ketujuh., dan pada hari tersebut, biasanya hari ke empat diperkirakan proses biodegradasi mulai berlansung, terus menerus hingga biodegradasi mencapai maksimum, umumnya dicapai pada hari ke 10 hingga hari ke 25. Dalam pengamatan kekeruhan dan pengukuran nilai OD, umumnya tidak mengalami perubahan yang signifikan setelah masa kontak berlangsung 15–30 hari, bahkan dencerung menurun, sementara indikator biodegradasi lainnya, seperti bau fermentasi, gelembung gas mulai tampak setelah masa interaksi berlangsung pada hari ke 5 dan semakin kuat seiring dengan bertambahnya waktu kontak material degradasi tersebut. Pengukuran kerapatan optik dapat dilakukan dengan cara mengikuti prosedur sebagai berikut:

Sebanyak 1 mL kultur isolat diambil dan diencerkan ke dalam 1- 4 mL NaCl 0,9% fisiologis steril (2 hingga 5 kali pengenceran, tergantung kekeruhan media). Diambil 2 mL dari masing-masing sampel dan dimasukkan ke dalam kuvet. Tiap sampel diukur absorbansinya menggunakan spektrometri 20D⁺, pada panjang ($\lambda=600$ nm). Blanko digunakan NaCl 0,9% fisiologis steril. Nilai kerapatan optik setiap pengukuran dihitung dengan menggunakan rumus:

$$OD = 2 - \log \%T, \dots\dots\dots 6.1$$

OD = *Optical density* (kerapatan optik)

%T = Transmittan yang terukur pada spektrometri pada $\lambda=600$ nm

Pengukuran OD biasanya dilakukan periodik, misalnya setiap 3 hari masa kontak. Setiap pengukuran atau pengamatan indikator degradasi harus dilakukan dalam *laminary air flow*, untuk menjamin dan memastikan bahwa tidak ada kontaminan yang masuk dalam reaktor. Perubahan absorbansi media degradasi akibat proses dan kerja bakteri dicontohkan dalam tulisan ini sebagaimana dapat dilihat pada Lampiran 3, halaman 242-243.

6.3.2 Bau Fermentasi

Biodegradasi sesungguhnya adalah reaksi oksidasi, yakni teroksidasinya material limbah hidrokarbon (*sludge*) minyak bumi, dimana oksidasi dapat berlangsung ditandai dengan kehadiran zat enzim dalam media degradasi yang dihasilkan oleh bakteri (mikrosimbion

spons) membentuk senyawa antara mengandung gugus hidroksil (-OH). Reaksi oksidasi ini akan berlangsung terus menerus selama tersedia material karbon dalam media yang dimanfaatkan oleh bakteri sebagai sumber makanan untuk diubah dalam bentuk energi. Zat antara tersebut selanjutnya berubah menjadi zat organik lainnya termasuk aldehid, senyawa karboksilat, benda keton, untuk selanjutnya masuk ke dalam siklus Krebs, hingga diperoleh produk metabolisme berupa metabolik dalam bentuk senyawa organik sederhana. Zat antara inilah yang kemudian diduga kuat menghasilkan bau fermentasi sebagai akibat dari reaksi oksidasi oleh enzim dari bakteri.

Bau fermentasi dalam proses biodegradasi hidrokarbon, sebelumnya dapat diprediksi kemunculannya jika dilakukan analisis fenotip bakteri sebelum digunakan dalam proses biodegradasi. Jika pada hasil uji oksidatif/fermentatif dalam metode uji biokimia “positif” dalam uji biokimia terhadap bakteri degradator, menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu melakukan reaksi fermentasi dan reaksi oksidasi sebagai hasil kerja dari reaksi enzimatik, sehingga jika bakteri tersebut bekerja dalam proses biodegradasi juga akan mendegradasi hidrokarbon dengan menempuh jalur mekanisme reaksi enzimatik atau reaksi oksidatif dan fermentatif. Reaksi oksidasi yang terjadi pada proses biodegradasi hidrokarbon menunjukkan adanya enzim yang diproduksi dari bakteri yang memiliki aktivitas sitokromoksidase. Enzim-enzim ini disebut enzim oksidase yang memainkan peran penting transport elektron pada respirasi aerob. Sitokrom oksidase dapat mengkatalisis oksidase yang berasal dari sitokrom yang tereduksi oleh molekul oksigen (O_2), menghasilkan pembentukan H_2O atau H_2O_2 , hal ini mengindikasikan pula bahwa jenis bakteri tersebut adalah bakteri aerob, artinya bakteri yang bekerja dalam proses biodegradasi memerlukan adanya oksigen.

6.3.3 Pembentukan Gelembung Udara

Gelembung udara yang terbentuk dalam media biodegradasi dapat diprediksi bahwa jenis bakteri simbiosis spons yang digunakan adalah bakteri golongan aerob, yaitu bakteri yang menggunakan oksigen bebas dalam melakukan aktivitasnya. Pembentukan gelembung udara

merupakan bentuk konplementer dengan indikator lainnya dalam proses biodegradasi, yakni bau fermentasi. Pembentukan gelembung udara ini juga mengindikasikan bahwa proses biodegradasi sesungguhnya adalah berlangsungnya reaksi fermentasi yang melibatkan aliran elektron dari molekul oksigen terjadi selama proses biodegradasi berlangsung. Jika gelembung udara yang terbentuk semakin banyak, menunjukkan bahwa banyak bakteri yang bekerja dalam mendegradasi hidrokarbon, sehingga kebutuhan oksigen juga semakin banyak.

Observasi pembentukan gelembung udara pada media degradasi, sebagaimana dicontohkan berikut menunjukkan adanya pembentukan gelembung udara signifikan terjadi pada masa kontak 5 hari ke atas (tahap degradasi I) dan terlihat stagnan pada masa kontak 10-20 hari (fase stasioner bakteri) tahap degradasi II, selanjutnya terlihat ada penurunan gelembung udara signifikan setelah hari ke 20 ke atas, tahap degradasi III. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah sel bakteri pada masa kontak tahap I meningkat tajam dan selanjutnya sel bakteri masuk tahap stasioner, yaitu jumlah sel yang membelah relatif seimbang dengan jumlah sel yang mati, dan menurun ditandai dengan penurunan gelembung udara yang juga menunjukkan pada tahap tersebut sel-sel bakteri mulai mengalami kematian yang signifikan, hal ini juga akan ditandai dengan proses degradasi untuk mengkonversi hidrokarbon menjadi produk senyawa organik sederhana juga terjadi semakin kecil. Pengamatan pembentukan gelembung udara pada media biodegradasi dapat dilakukan dengan cara: Pengamatan pembentukan gelembung udara melihat pembentukan gelembung udara pada permukaan suspensi setiap kultur dalam reaktor atau pial, semprotan gas terasa saat tutup reaktor dibuka, bau yang timbul dapat diketahui sesaat setelah tutup pial dibuka dan tercium bau fermentasi. Jika terbentuk gas dan bau, berarti terpenuhi salah satu indikator yang menunjukkan terjadinya biodegradasi antara suspensi mikrosimbion/biomassa spons dengan limbah *sludge* minyak bumi atau limbah hidrokarbon lainnya sesuai yang digunakan dalam proses biodegradasi tersebut.

6.3.4 pH Media Biodegradasi

Tingkat keasaman media degradasi mengalami perubahan seiring dengan bertambahnya waktu kontak. pH media degradasi cenderung

menurun atau bertambah asam, hal ini sebagai konsekuensi dari terjadinya biodegradasi dalam kerja reaksi oksidasi oleh enzim. Penurunan pH media menunjukkan bahwa degradasi hidrokarbon kemungkinan besar telah mencapai tahap pembentukan senyawa antara asam karboksilat untuk selanjutnya segera masuk dalam tahapan siklus Krebs.

Perubahan pH yang dimaksud disini adalah penurunan pH media degradasi selama biodegradasi berlangsung, yang berarti media tersebut bertambah asam, umumnya terjadi bersamaan dengan pembentukan bau fermentasi dan terbentuknya gelembung udara. Sehingga dapat dipastikan bahwa apabila teramati ke-4 indikator ini, yakni peningkatan kerapatan optik, terciumnya bau fermentasi, terbentuknya gelembung udara dan bertambah asamnya media degradasi merupakan indikator utama yang mengarahkan kita pada suatu kesimpulan bahwa telah terjadi proses biodegradasi hidrokarbon oleh bakteri, meskipun kinerja bakteri dalam melakukan degradasi terhadap suatu jenis hidrokarbon belum dapat ditentukan secara kuantitatif. Penentuan kinerja bakteri dalam mendegradasi jenis hidrokarbon dapat ditentukan dengan melakukan pengukuran konsentrasi awal hidrokarbon sebelum interaksi dan pengukuran konsentrasi sisa hidrokarbon setelah proses biodegradasi berlangsung berdasarkan waktu kontak dalam hari. Tingkat keasaman (pH) merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi laju pertumbuhan mikroba. kebanyakan bakteri pendegradasi hidrokarbon dapat tumbuh dengan baik pada kisaran pH netral. Perubahan pH media degradasi tidak terjadi sporadis dalam artian penurunan nilai pH dalam range sempit. Dalam banyak pengalaman menerapkan metode biodegradasi teramati bahwa umumnya pH awal sebelum proses degradasi berjalan pada nilai pH netral di sekitar angka 7 dan perlahan menurun pada penunjukkan angka 6, dan dalam sedikit kasus penurunan dapat berlanjut menjadi pH 5, selanjutnya secara beransur nilai pH kembali ke penunjukkan angka 6 bahkan dapat kembali seperti semula pada pH 7.

Tingkat keasaman dapat berubah selama pertumbuhan mikroba. Peningkatan pH dapat terjadi oleh adanya proses reduksi nitrat membentuk amonia atau gas nitrogen, sedangkan penurunan pH dapat terjadi apabila terbentuk asam-asam organik dari proses fermentasi.

Pemanfaatan minyak mentah sebagai sumber karbon tunggal dan sumber energi oleh mikroorganisme yang digunakan untuk pertumbuhan, seiring dengan produksi asam. Hal ini yang menyebabkan pH kultur menjadi turun atau bertambah asam. Pengamatan kultur isolat dalam setiap pial dilakukan dengan cara: cairan media diambil dengan hati-hati menggunakan pipet tetes, lalu ditetaskan pada indikator universal Merck. Setelah itu dibiarkan kurang lebih 1 menit hingga kering dengan diangin-anginkan sampai tidak terjadi lagi perubahan warna dan nilai pH dibaca berdasarkan warna yang terbentuk dicocokkan dengan skala warna acuan pada kemasan indikator. Pengukuran pH masing-masing pial dilakukan *duplo* dan interval pengukuran pH sebaiknya dilakukan setiap 2 hari sekali, untuk lebih jelasnya dapat dilihat perubahan pH media degradasi sebagaimana tampak pada Lampiran 4, halaman 244.

6.3.5 Tingkat Degradasi Hidrokarbon

Performa bakteri dalam mendegradasi komponen hidrokarbon dapat dilihat pada 2 analisis sebagai parameter atau indikator penilaian dalam biodegradasi, yakni: *pertama*, analisis kualitatif yang terdiri atas: (1) peningkatan kerapatan optik, (2) bau fermentasi, (3) terbentuknya gelembung udara, dan (4) perubahan pH media degradasi, dan *kedua*, analisis kuantitatif terdiri atas, (1) seberapa besar tingkat penurunan konsentrasi hidrokarbon akibat dari proses biodegradasi yang terjadi. Penurunan konsentrasi hidrokarbon di tentukan dengan melakukan pengukuran konsentrasi hidrokarbon menggunakan Kromatografi Gas-Spektrofotometri Massa (GC-MS), (2) pengamatan jenis produk biodegradasi. Sesuai teori dikatakan produk biodegradasi komponen hidrokarbon adalah senyawa organik sederhana, untuk itu perlu dilakukan kombinasi analisis dengan menentukan senyawa produk biodegradasi menggunakan instrumentasi Spektroskopi Infra Merah yakni FTIR (*Fourrier Transform-Infra Red*). Pengukuran dengan FTIR dibutuhkan untuk memastikan bahwa produk biodegradasi adalah senyawa-senyawa organik sederhana berupa CO₂, CH₄, H₂O, surfaktan, bioemulsi dan produk lainnya. Pengujian atau pengukuran komponen yang merupakan produk dari biodegradasi limbah hidrokarbon minyak bumi menggunakan instrument FTIR tidak mesti harus dilakukan dalam biodegradasi, namun demikian bersifat pada pencocokan untuk memberi

keyakinan bahwa biodegradasi *sludge* yang dilakukan menggunakan degradator bakteri simbiosis benar-benar terjadi dengan tingkat keberhasilan tinggi termasuk tingkat degradasi yang dicapai adalah signifikan dalam mengurangi sifat dan konsentrasi limbah *sludge* minyak bumi.

Berikut ini adalah kromatogram salah satu hasil pengukuran *sludge* limbah minyak bumi yang diperoleh dari PT. Chevron Pacific, Dumai Riau, Indonesia dengan menggunakan GC-MS, sebagaimana tampak dalam Gambar 6.2, berikut:

Gambar 6.2 Kromatogram hubungan kelimpahan komponen dalam limbah *sludge* minyak bumi dengan waktu retensi (menit) sebelum kontak dengan suspensi mikrosimbiosis/ biomassa spons *Callyspongis sp.* [tanda x : pristana (C₁₉) dan Y: phytana (C₂₀)]

Phytana adalah jenis alkana golongan diterpenoid yang ada dalam setiap minyak bumi yang terbentuk dari dehidroksilasi phytol mengandung atau memiliki satu karbon tambahan. Phytana adalah produk pemecahan klorofil dan sekarang digunakan untuk menunjukkan kadar CO₂ dalam minyak bumi kuno. Phytana memberikan pemahaman bahwa konsentrasi CO₂ yang terus menerus ada dalam minyak bumi sekalipun mencapai umur 500 tahun, sedangkan Pristane adalah jenis alkana terpenoid jenuh alami yang ada dalam setiap minyak bumi. Umumnya minyak bumi yang mengandung phytana adalah minyak bumi yang diperoleh terutama terbentuk dari minyak hati ikan hiu, jenis alkana ini juga dapat ditemukan dalam perut burung dalam urutan *Procellariiformes* dan dalam minyak mineral dan beberapa makanan jenis makanan. Phytana adalah cairan berminyak transparan yang tidak dapat larut dengan air, tetapi larut dalam dietil eter, benzena, kloroform, dan karbon tetraklorida.

Penentuan tingkat degradasi mikrosimbion/biomassa spons terhadap limbah hidrokarbon atau *sludge* juga dapat ditentukan dengan membandingkan selisih konsentrasi awal dan setelah setelah kontak, ditentukan dengan metode gravimetrik. Gravimetri adalah suatu analisa dimana cara penetapannya dilakukan dengan pengukuran berat komponen yang dikehendaki, dalam keadaan murni setelah melalui proses pemisahan. Proses pemisahan meliputi pemisahan komponen yang diinginkan tidak hanya dari komponen-komponen lain yang tidak diinginkan, tetapi juga dari pelarutnya. Pemisahan dapat dilakukan dengan cara:

1. Gravimetri cara penguapan

Misalnya untuk menentukan kadar air, (air kristal atau air yang ada dalam suatu sampel).

2. Gravimetri elektrolisa

Zat yang dianalisa di tempatkan di dalam sel elektrolisa, sehingga logam yang mengendap pada katoda dapat ditimbang.

3. Gravimetri metode pengendapan

Menggunakan pereaksi yang akan menghasil-kan endapan dengan zatyang dianalisa sehingga mudah dipisahkan dengan cara penyaringan.

Analisis gravimetri merupakan analisis kimia secara kuantitatif berdasarkan proses penimbangan dan pemisahan suatu unsur atau senyawa tertentu dalam bentuk semurni mungkin. Hal yang harus diperhatikan dalam analisis yaitu penentuan kadar zat berdasarkan pengukuran berat analit atau senyawa yang mengandung analit dapat dilakukan dengan:

1. Metode pengendapan: isolasi endapan sukar larut dari suatu komposisi yang tidak diketahui.
2. Metode penguapan: larutan yang mengandung senyawadiuapkan, ditimbang, dan kehilangan berat dihitung.

Analisis gravimetri juga merupakan metode analisis yang biasa digunakan dalam perhitungan berat sisa residu *sludge* minyak bumi setelah proses degradasi, dengan mengikuti prosedur berikut: Pelarut dikloromethan GR diupkan, lalu dipipet 50 μL , setelah semua pelarut hilang dikeringkan dalam desikator, kemudian limbah *sludge* minyak

bumi dalam pial ditimbang (X). Persentase limbah *sludge* minyak bumi terdegradasi ditentukan dengan menggunakan rumus:

$$B_m = X - Y, \dots\dots\dots 6.2$$

- B_m = bobot limbah *sludge* minyak bumi sisa degradasi (g)
- X = bobot vial + bobot *sludge* minyak bumi sisa degradasi (g)
- Y = bobot vial kosong (g)

Sedangkan bobot limbah *sludge* terdegradasi oleh mikrosimbion/sel biomassa spons berdasarkan waktu kontak (hari) ditentukan dengan rumus:

$$B_{ak} = B_{aw} - B_m, \dots\dots\dots 6.3$$

- B_{ak} = bobot limbah *sludge* minyak bumi yang hilang setelah degradasi (g)
 - B_m = bobot limbah *sludge* minyak bumi sisa degradasi (g)
 - B_{aw} = bobot awal *sludge* minyak bumi yang ditimbang (g)
- Penentuan persentase limbah *sludge* minyak bumi (SMB) terdegradasi oleh mikrosimbion/biomassa spons adalah:

$$\% B_{ak} = \frac{(B_{ak})}{B_{aw}} \times 100\% \dots\dots\dots 6.4$$

- % B_{ak} = persen limbah *sludge* minyak bumi terdegradasi (%)
- B_{aw} = bobot limbah *sludge* minyak bumi yang ditimbang (g)
- B_{ak} = bobot limbah *sludge* minyak bumi akhir yang terdegradasi (g)

Penentuan status komponen kimia hidrokarbon limbah *sludge* minyak bumi (SMB) setelah didegradasi dengan menggunakan material mikrosimbion/biomassa spons sebagai degradator dilakukan dengan mengikuti prosedur berikut: Limbah *sludge* minyak bumi sisa degradasi dimasukkan dalam pial (bobot pial kosong = Y), limbah *sludge* minyak bumi tersebut dilarutkan dalam 10 mL dikloromethan GR (P.10⁻¹). Larutan dipipet 50 µL dimasukkan dalam pial, diencerkan dengan 5 mL dikloromethan GR (P.10⁻³), sampel tersebut di pipet 2 mL, dimasukkan

dalam pial dan ditambah 1 mL standar iso-oktan 100 ppm dikocok dan dibebasairkan, selanjutnya sampel siap diukur dengan GC-MS.

Penentuan *weight loss crude oil* dilakukan dengan modifikasi metode yang telah dikembangkan sebelumnya. Misalnya pada prosedur lainnya dimasukkan 20 mL toluene GR kedalam botol untuk mengekstrak sisa minyak mentah. Kemudian campuran tersebut dimasukkan ke dalam corong pisah dan dilakukan pengocokan selama ± 15 menit agar ekstraksi minyak berjalan sempurna. Kemudian campuran didiamkan hingga terbentuk 2 lapisan, lapisan bawah merupakan suspensi bakteri dan media MSS sedangkan lapisan atas merupakan ekstrak minyak mentah dalam toluene. Pelarut toluene diuapkan pada suhu 110°C hingga diperoleh bobot tetap.

Prosedur lainnya juga dapat dilakukan untuk menentukan perse *sludge* minyak bumi yang terdegradasi menggunakan pelarut lainnya seperti n-heksana dengan mengikuti prosedur berikut: 10 g sampel slugde ditambah 50 mL n-heksana dalam Erlenmeyer 250 mL, kemudian dishaker sampai terlihat minyaknya ke luar sari sampel, lalu ditranfer ke dalam beaker glas yang sudah diketahui bobotnya. Kemudian diuapkan dalam oven pada suhu 70°C . Minyak yang diperoleh ditimbang untuk mengetahui jumlah minyak yang terkandung dalam contoh setelah ekstraknya habis menguap. Tingkat degradasi diukur dengan rumus :

$$\% \text{ degradasi} = \frac{TPH_0 - TPH_{35}}{TPH_0} \times 100 \%, \dots\dots\dots 6.5$$

Keterangan

Penggunaan pelarut toluena untuk prioritas PAH dan n-heksana untuk hidrokarbon secara umum, sehingga dapat diganti dengan diklorometan kualitas GR

TPH_0 = degradasi TPH hari ke- 0 (g)

TPH_{35} = degradasi TPH hari ke-35 (g)

Berat *sludge* minyak bumi dari semua variasi perlakuan baik pada skala laboratorium maupun skala mikrokosmos di awal dan akhir eksperiman dilakukan dengan menimbang setelah terlebih dahulu dipisahkan dari medium cair suspensi dengan menggunakan pelarut diklorometana, n-heksana, dikloromethana, dietil-eter dan pelarut lainnya, kemudian dioven untuk menghilangkan pelarutnya, lalu

ditimbang. Persentase penurunan berat *sludge* minyak bumi selama uji perlakuan menunjukkan persentase degradasi yang terjadi.

Analisis yang lebih akurat terkait dengan TPH dapat dilakukan dengan menentukan orde reaksinya agar dapat di buat suatu persamaan garis lurus yang tetap, dilakukan dengan membuat grafik hubungan antara $\ln [C]$ dan $\ln r$ sehingga dapat ditentukan tangen persamaan diferensialnya. Berdasarkan per samaan: $\ln r = \ln k + \ln [C]$, jika dibuat grafik hubungan antara $\ln [C]$ dan $\ln r$, maka akan diperoleh grafik garis lurus dengan n adalah *slope* dan $\ln k$ adalah intersep. Konstanta reaksi akan lebih akurat ketika di ukur dengan menggunakan metode integrasi.

Gambar 6.3 Contoh kerja bakteri terhadap konsentrasi TPH berdasarkan waktu kontak (hari)

Karakteristik limbah *sludge* minyak bumi juga dapat dianalisis dengan menentukan beberapa parameter mengikuti prosedur berikut: Penentuan fraksi menguap (fraksi ringan) sampel limbah *sludge* minyak bumi (SMB) dilakukan dengan cara: Ditimbang 5 g limbah *sludge* minyak bumi ditempatkan dalam cawan forselin dan dioven pada suhu awal 50 °C selama 30 menit, setelah dingin ditimbang. Pemanasan kedua pada suhu 60 °C selama 30 menit, dan seterusnya sampai pemasan pada suhu 100 °C, dimana suhu pemanasan dinaikkan 10 °C dan waktu pemasanan tetap 30 menit. Kadar fraksi menguap limbah *sludge* minyak bumi dihitung dengan cara:

$$Kfu = Bfu_{awal} - Bfu_{akhir} \dots\dots\dots 6.6$$

Kfu = Kadar fraksi menguap limbah hidrokarbon *sludge* minyak bumi (g)

Bfu_{awal} = berat cawan porselin + berat hidrokarbon *sludge* limbah hidrokarbon *sludge* minyak bumi sebelum dioven (g)

$B_{fu_{akhir}}$ = berat cawan porselin + berat hidrokarbon *sludge* minyak bumi setelah dioven (g)

sedangkan persen fraksi menguap hidrokarbon limbah *sludge* minyak bumi ditentukan dengan menggunakan rumus:

$$\% K_{fu} = \frac{(B_{fu\ awal} - B_{fu\ akhir})}{B_{fu\ awal}} \times 100\%, \dots\dots\dots 6.7$$

$\% K_{fu}$ = persen kadar fraksi menguap hidrokarbon *sludge* minyak bumi (%)

Penentuan kadar air sampel limbah *sludge* minyak bumi dapat dilakukan dengan prosedur: sebanyak 5 g, dimasukkan dalam cawan porselin dan dioven pada suhu 105 °C selama 15 menit, setelah dingin ditimbang. Kadar air ditentukan dengan rumus:

$$K_a = B_{awal} - B_{akhir}, \dots\dots\dots 6.8$$

K_a = Kadar air limbah hidrokarbon *sludge* minyak bumi (g)

B_{awal} = berat cawan porselin + berat hidrokarbon *sludge* limbah hidrokarbon *sludge* minyak bumi sebelum dioven (g)

B_{akhir} = berat cawan porselin + berat hidrokarbon *sludge* minyak bumi setelah dioven (g)

Persen kadar air hidrokarbon *sludge* minyak bumi ditentukan dengan menggunakan rumus:

$$\% K_a = \frac{(B_{awal} - B_{akhir})}{B_{awal}} \times 100\%, \dots\dots\dots 6.9$$

$\% K_a$ = persen kadar air hidrokarbon *sludge* minyak bumi (%)

Penentuan komponen hidrokarbon sampel limbah *sludge* minyak bumi dan bobot komponen tak larut, (Bossert *et al.*, 2007)

6.4 Faktor yang Mempengaruhi Biodegradasi

Biodegradasi senyawa hidrokarbon yang terdapat pada limbah pengilangan minyak bumi dipengaruhi oleh faktor fisika, kimia dan biologi. Faktor fisika-kimia yang berpengaruh terhadap biodegradasi hidrokarbon antara lain seperti komposisi kimia substrak, struktur kimia

hidrokarbon, konsentrasi hidrokarbon, suhu, oksigen, salinitas, pH, nutrisi, cahaya dan tekanan osmotik. Umumnya kecepatan degradasi minyak bumi oleh bakteri aerob berlangsung optimum pada suhu berkisar antara 15–30 °C, meskipun dalam prakteknya yang banyak dilakukan pada suhu kamar (30-33 °C). Faktor biologis meliputi mikroorganisme yang ada, karakter, jumlah sel, serta enzim yang dimiliki atau diproduksi oleh organisme tersebut. Keefektifan proses biodegradasi terhadap limbah hidrokarbon bergantung pada beberapa faktor. Faktor yang dapat mempengaruhi biodegradasi antara lain:

- 1 Komposisi penyusun polutan. Komposisi dari hidrokarbon polutan merupakan hal penting yang dipertimbangkan untuk menyesuaikan dengan metode degradasi yang dipilih. Komponen minyak bumi yang lebih berat, umumnya lebih sulit terurai, meskipun dalam beberapa literatur dikatakan bahwa justru dapat lebih mudah terurai mengingat pada komponen berat dengan panjang rantai tertentu terdapat banyak simpul yang dapat diinduksi oleh enzim dari mikroba;
- 2 Jenis bakteri yang digunakan dalam biodegradasi sangat menentukan tingkat degradasi. Beberapa bakteri diketahui hanya efektif mendegradasi jenis hidrokarbon tertentu dan tidak efektif dalam mendegradasi hidrokarbon jenis lainnya, karena setiap jenis bakteri memiliki mekanisme tersendiri dalam melakukan degradasi hidrokarbon. Ada bakteri yang efektif dalam mendegradasi hidrokarbon golongan alifatik namun tidak cukup kuat untuk mendegradasi hidrokarbon jenis aromatik. Penggunaan konsorsium bakteri karbonoklastik menjadi pertimbangan dalam melakukan biodegradasi untuk mendapatkan hasil dan tingkat degradasi yang tinggi;
- 3 Jumlah sel bakteri. Tingkat degradasi hidrokarbon dalam minyak bumi meningkat dengan adanya metabolisme minyak bumi oleh jumlah sel bakteri yang banyak, meskipun penggunaan organisme tunggal hanya dapat merombak kisaran substrat hidrokarbon terbatas, sehingga mikroorganisme campuran atau konsorsium diperlukan untuk mendegradasi hidrokarbon kompleks, seperti minyak mentah;
- 4 Suhu memainkan peranan utama dalam biodegradasi hidrokarbon minyak bumi, pertama kali dengan pengaruh secara langsung pada

kimia polutan, dan yang kedua adalah pengaruhnya pada fisiologi dan lingkungan mikroba. suhu dapat mempengaruhi keduanya, baik pada lingkungan tumpahan minyak dan pada aktivitas atau populasi dari mikroorganisme. Pada suhu rendah viskositas minyak meningkat dan volatilitas senyawa toksik menurun, sehingga menghambat proses biodegradasi;

- 5 Nutrisi merupakan komponen yang sangat penting dalam biodegradasi hidrokarbon. Mineral yang tidak memadai, terutama nitrogen, fosfor dan besi dapat membatasi pertumbuhan mikroorganisme yang justru memanfaatkan hidrokarbon sebagai makanan untuk selanjutnya dimetabolisme sebagai sumber energi;
- 6 pH pada proses biodegradasi menjadi salah satu faktor yang dapat mempengaruhi proses biodegradasi. Pada umumnya bakteri pendegradasi dapat tumbuh dengan kisaran pH yang optimal. Kisaran pH ini optimum pertumbuhan bakteri pada umumnya yaitu pH 6-8. Tingkat optimal pertumbuhan dan biodegradasi hidrokarbon dapat berlangsung pada keadaan yang cukup nutrisi, oksigen yang cukup dan pH antara 6 dan 9. Pergeseran pH yang tidak terlalu besar, jika ada larutan penyangga berupa KH_2PO_4 dalam medium. Penurunan harga pH disebabkan oleh aktivitas metabolisme bakteri dalam proses biodegradasi minyak bumi yang menghasilkan asam karboksilat dan akhirnya menjadi asam lemak sebagai produk akhirnya. Contoh detail penentuan tingkat degradasi komponen hidrokarbon hasil pengukuran dengan GC-MS dapat dilihat pada Lampiran 5, halaman 245-250. Lampiran 6, halaman 251, tentang perubahan luas puncak dan konsentrasi komponen hidrokarbon alifatik, dan Lampiran 7, halaman 252 tentang perubahan konsentrasi komponen alifatik dalam Limbah SMB docontohkan pada perlakuan 1, menggunakan Bakteri *Bacillus Flexus* Strain PHCDB20, serta Lampiran 8, halaman 253 tentang waktu retensi untuk konsentrasi Hidrokarbon sebelum dan setelah proses biodegradasi.

BAB 7 BIODEGRADASI KOMPONEN HIDROKARBON ALIFATIK

7.1 Komposisi dan kondisi media degradasi limbah *sludge* minyak bumi

Pemenuhan kebutuhan hidup manusia dengan berbagai aktivitas berkontribusi besar terhadap terjadinya pencemaran lingkungan tidak terkecuali pada lingkungan laut, dapat berasal dari aktifitas industri, transportasi laut, kegiatan pertambangan, bongkar muat kapal, kegiatan rumah tangga. Sumber limbah minyak bumi dalam lingkungan laut dan pesisir terdiri atas limbah industri pengolahan, kegiatan eksplorasi, eksploitasi, limbah cair pemukiman (*seawage*), limbah cair perkotaan (*urban stormwater*), kecelakaan transportasi (*shipping*) kapal tanker, kegiatan pertanian, perikanan, berpotensi mencemari lingkungan laut.

Salah satu pencemaran di laut golongan Bahan Berbahaya dan Beracun (B3) yang menonjol hingga saat ini adalah kontaminasi hidrokarbon minyak bumi (*hidrokarbon petroleum*), baik hidrokarbon jenis alifatik maupun jenis Polisiklik Aromatik Hidrokarbon (PAH) dapat berwujud cair sampai padat, bervariasi mulai dari yang tidak berwarna sampai berwarna hitam seperti tar (*sludge*). Ciri fisik kontaminan hidrokarbon tersebut yang kebanyakan berupa minyak mentah (*crude oils*) adalah berwarna gelap, coklat kekuningan, merah kehitaman atau kehijauan apabila terefleksi cahaya. Kontaminasi hidrokarbon di laut menimbulkan masalah serius bukan hanya pada kematian biota laut tetapi juga membentuk siklus dan sangat sulit terurai, hingga akhirnya dapat terpapar pada manusia. Seseorang yang terpapar limbah hidrokarbon yang mungkin saja bersifat karsinogenik dan mutagenik dapat terjadi baik akut maupun kronik potensial berakibat pada kematian. Kontaminasi hidrokarbon pada area tanah dan laut sangat rentan terjadi, baik disebabkan karena volume, jalur distribusi maupun sumber kontaminan.

Dewasa ini metode pengolahan limbah hidrokarbon yang banyak dilakukan adalah metode fisika (memperlambat sebaran polutan), metode penambahan bahan kimia dapat dilakukan namun biaya sangat mahal dan metode biologi juga kurang berhasil guna karena harus dilakukan pada area terisolasi, sehingga disimpulkan bahwa metode ini kurang efektif dan tidak efisien dalam pengelolaan limbah hidrokarbon apalagi jenis PAH. Penerapan metode biodegradasi dalam penanganan limbah hidrokarbon sudah banyak dilakukan, namun sumber bakteri pendegradasi diisolasi dari objek lain seperti sedimen, air laut, tanah terkontaminasi hidrokarbon dan lain sebagainya. Biodegradasi limbah minyak bumi khususnya hasil samping dari pengolahan minyak bumi berupa *sludge* dengan menggunakan isolat bakteri indegenus, seperti yang telah dilakukan sebelumnya menggunakan menggunakan *Bacillus* Strain 28A dan 61B yang diisolasi dari minyak yang tumpah di tanah dan reduksi daya racun polutan *sludge* minyak bumi menggunakan mikrosimbion spons. Hasil yang dicapai dari metode biodegradasi terhadap hidrokarbon alifatik dengan memanfaatkan bakteri simbiosis spons berhasil mengurangi konsentrasi *sludge* hingga konsentrasi kurang dari setengah konsentrasi semula.

7.2 Mempersiapkan Biodegradator *Sludge* menggunakan Mikrosimbion Spons

Biodegradasi yang dilakukan terhadap *sludge* minyak bumi dengan menggunakan bakteri degradator yang diisolasi dari spons, diawali dengan mengidentifikasi morfologi spons sumber bakteri meliputi pertumbuhan spons, karakteristik dan spesies spons laut, isolasi mikrosimbion spons, analisis morfologi isolat, analisis fenotip simbiosis pada 15 media (uji biokimia) untuk mengetahui karakteristik isolat, analisis genotip mikrosimbion dengan metode PCR untuk mengetahui jumlah pasangan basa nitrogen dan spesies serta strain isolat tersebut. Penelusuran mikrosimbion spons potensial melalui uji pendahuluan isolat pada media terkontaminasi hidrokarbon, dipilih isolat positif lalu dilakukan kultur pada media NA untuk memperbanyak sel, pembuatan suspensi isolat, variasi

waktu interaksi antara suspensi mikrosimbion dengan limbah *sludge* minyak bumi (SMB) mencapai 30 hari dan juga konsentrasi SMB yang bervariasi dalam media biodegradasi dilakukan dalam reaktor. Proses interaksi dilakukan pada suhu konstan 31 °C dan dilakukan agitasi dengan Shaker kecepatan 45 rpm dimana semua reaktor dalam keadaan terisolasi. Pengamatan kinerja mikrosimbion dalam mendegradasi limbah *sludge* minyak bumi dengan mengamati 5 parameter degradasi (indikator biodegradasi), yakni meliputi: (1) Kerapatan optik media degradasi dalam reaktor, (2) pengamatan pembentukan gelembung udara media, (3) pembentukan bau fermentasi pada media degradasi, (4) perubahan pH media, dan (5) pengukuran konsentrasi limbah *sludge* minyak bumi yang tidak terdegradasi untuk mengetahui tingkat degradasi yang terjadi sebagai kinerja dari bakteri degradator hidrokarbon, yakni selisih bobot *sludge* minyak bumi yang terdegradasi sebagai volume awal dan akhir dalam proses biodegradasi.

Berdasarkan indikator biodegradasi yang diamati menunjukkan bahwa isolat simbiosis spons laut hasil kultur dapat mendegradasi limbah hidrokarbon termasuk *sludge* dengan hasil yang sangat baik. Biodegradasi SMB oleh bakteri simbiosis spons terjadi jika ada kontak antara mikroorganisme dengan substrak (limbah SMB) yang berlangsung pada media/ lingkungan sebagai host. Hasil biodegradasi adalah senyawa sederhana akibat adanya pemecahan molekul material yang terdegradasi.

Hasil degradasi maksimal dapat dicapai jika ada akselerasi antara tiga komponen utama degradasi yakni, mikroorganisme, substrak (*sludge*), dan lingkungan/media degradasi. Komposisi dan kondisi media degradasi penting diketahui untuk memberikan penjelasan komprehensif bagaimana proses degradasi terjadi dan jalur mekanisme reaksi yang ditempuh serta jenis mekanisme apa yang berlangsung dalam suatu pemecahan molekul hidrokarbon antara mikroorganisme dengan limbah SMB. Komposisi media degradasi yang dibuat merupakan kondisi ideal, adopsi dari beberapa metode yang telah dilakukan pada eksperimen sebelumnya, diharapkan agar terjadinya biodegradasi maksimal

antara mikrosimbion spons sebagai biodegradator dengan limbah *sludge* minyak bumi (SMB). Konsentrasi sel bakteri dalam suspensi tidak dapat dibuat sama. Tabel 7.1, adalah contoh yang memperlihatkan komposisi dan kondisi media degradasi, sebagai berikut:

Tabel 7.1 Komposisi dan kondisi media degradasi yang digunakan dalam proses biodegradasi limbah SMB (*sludge* minyak bumi) oleh mikrosimbion/biomassa spons *Callyspongia sp*

Uraian komponen media	Jenis bakteri simbion/biomassa spons				
	BS	BF	BSF	BM	KP
Media pertumb.	SMSS	SMSS	SMSS	SMSS	SMSS
V. media pertumb.	10 mL	10 mL	10 mL	10 mL	10 mL
Jumlah sel bakteri	4,8.10 ³ sel/mL	3,3.10 ⁴ sel/mL	2,6.10 ⁴ sel/mL	1,5.10 ¹ sel/mL	3,0.10 ⁴ sel/mL
Volume suspensi	10 mL	10 mL	10 mL	10 mL	10 mL
pH media	7	7	7	6,5	7
Temperatur kerja	t.kamar	t. kamar	t. kamar	t. kamar	t. kamar
Waktu kontak	35 hari (setiap 5 hari dilakukan pengukuran)				
Kondisi kerja	aseptik	aseptik	aseptik	aseptik	aseptik

Keterangan: BS = *Bacillus subtilis* strain BAB-1684; BF = strain PHCDB20; BSF = gabungan BS + BF; BM = Biomassa spons dan KP = bakteri degradator kontrol positif jenis *Pseudomonas sp*.

Konsentrasi sel bakteri yang tinggi tidak memberi jaminan kinerja mikroba tersebut maksimal dalam mendegradasi SMB, namun dapat diasumsikan bahwa setiap sel bakteri dapat berkembang menjadi koloni apabila kondisi media pertumbuhan ideal dan berpengaruh besar terhadap kinerja degradasi mikroba terhadap komponen hidrokarbon limbah SMB. Pembentukan gas dan bau fermentasi yang timbul pada media degradasi selama masa kontak merupakan salah satu indikator proses biodegradasi telah terjadi antara suspensi mikrosimbion/biomassa spons *Callyspongia sp* dengan limbah SMB.

Sejatinya minimal 5 (lima) parameter yang berpengaruh utama pada biodegradasi limbah *sludge* minyak bumi (SMB) oleh bakteri simbion dan biomassa spons *Callyspongia sp*.

7.2.1 Pengamatan pembentukan gas dan bau fermentasi pada media degradasi

Hasil identifikasi pembentukan gas dan bau fermentasi pada media degradasi ditunjukkan pada Tabel 7.2, dibawah dimana mikrosimbion BF strain PHCDB20 lebih unggul atau lebih tahan pada media ekstrim dalam keadaan tanpa ketersediaan nutrisi NPK dan suplay O_2 dibandingkan dengan mikrosimbion BS strain BAB-1684, biomassa spons *Callyspongia sp* dan kontrol biakan murni *Pseudomonas sp*. Analisis pembentukan gas dan bau fermentasi media degradasi berdasarkan waktu kontak dan jenis bakteri simbiosis/biomassa dapat dilihat pada Tabel 7.2, berikut:

Tabel 7.2 Pembentukan gas dan bau fermentasi media degradasi berdasarkan waktu kontak dan jenis bakteri simbiosis/biomassa

Media degradasi	Perlakuan dan waktu kontak (hari)				Keterangan
	Perl . 1	Perl . 2	Perl . 3	Perl. 4	
Suspensi BS	15	15	15	20	Pemb Gas
	20	20	20	25	b. fermentasi
Suspensi BF	10	10	10	15	Pemb Gas
	15	15	15	20	b. fermentasi
Suspensi BSF	10	15	15	15	Pemb Gas
	15	20	20	20	b. fermentasi
Suspensi BM	15	15	15	20	Pemb Gas
	20	20	20	15	b. fermentasi
Suspensi KP	15	15	15	15	Pemb Gas
	20	20	20	20	b. fermentasi

Keterangan:

- Perlakuan 1: masing-masing suspensi (5 jenis) bakteri/biomassa spons *Callyspongia sp* ditambah kurang lebih 5 mL limbah SMB konsentrasi 1.10^5 ppm, ada penambahan NPK dalam reaktor dan di shaker;
- Perlakuan 2: masing-masing suspensi bakteri/biomassa spons *Callyspongia sp* ditambah kurang lebih 5 mL limbah SMB konsentrasi 1.10^5 ppm, ada penambahan NPK dalam reaktor dan tidak di shaker;
- Perlakuan 3: masing-masing suspensi bakteri/biomassa spons *Callyspongia sp* ditambah kurang lebih 5 mL limbah SMB konsentrasi 1.10^5 ppm, tidak ada penambahan NPK dalam reaktor dan di shaker;
- Perlakuan 4: masing-masing suspensi bakteri/biomassa spons *Callyspongia sp* ditambah kurang lebih 5 mL limbah SMB konsentrasi 1.10^5 ppm, tidak ada penambahan NPK dalam reaktor dan tidak dilakukan shaker.

Hal ini dapat dilihat pada tabel di atas yang menunjukkan bahwa penggunaan isolat BF sudah tampak pembentukan gelembung udara dan bau fermentasi sudah terjadi rata-rata pada hari ke 15 sedangkan isolat BS tampak setelah masa kontak rata-rata 20 hari. Hasil ini memberi petunjuk bahwa bahwa sel bakteri BF strain PHCDB20 dapat membentuk koloni maksimal dan lebih cepat menyesuaikan diri dengan lingkungan pertumbuhannya, meskipun kekurangan nutrisi NPK dan tidak mendapatkan suplai O₂, sehingga diasumsikan bahwa bakteri jenis BF strain PHCDB20 mikrosimbion spons *Callyspongia sp* dapat mendegradasi limbah SMB lebih kuat dibandingkan bakteri jenis BS strain BAB-1684, BM *Callyspongia sp*. Kinerja isolat BF relatif sama dengan kinerja biakan murni bakteri *Pseudomonas sp* dalam mendegradasi SMB.

Perbedaan waktu pembentukan gas dan bau fermentasi setiap suspensi disebabkan oleh susunan basa nitrogen bakteri simbiosis dan kemampuan adaptasi sel bakteri berbeda-beda sehingga bakteri simbiosis membutuhkan waktu kontak untuk adaptasi berbeda. Tabel 7.2, juga memperlihatkan bahwa ada pengaruh nutrisi (NPK) dan suplai oksigen (shaker) terhadap kinerja sel bakteri dalam mendegradasi komponen hidrokarbon limbah SMB, hal ini menunjukkan bahwa degradasi komponen hidrokarbon berlangsung dalam keadaan aerob dan ketersediaan nutrisi yang cukup.

7.2.2 Analisis Perubahan pH media degradasi limbah sludge minyak bumi

Parameter pH merupakan salah satu faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan sel bakteri dalam media degradasi. Contoh hasil pengukuran perubahan pH media degradasi berdasarkan waktu kontak disajikan dalam Tabel 7.3 berikut:

Tabel 7.3 Perubahan pH media degradasi berdasarkan waktu kontak bakteri simbiosis/biomassa.

Media degradasi	Waktu kontak (hari)							
	0	5	10	15	20	25	30	35
Suspensi BS	7	7	7	6	6	6	7	7
Suspensi BF	7	7	6	6	6	6	7	7
Suspensi BSF	7	7	6	6	6	6	7	7

Suspensi BM	7	6	6	6	6	6	6	7
Suspensi KP	7	7	6	6	6	7	7	7

Data diukur untuk perlakuan 1

Hasil degradasi komponen hidrokarbon berupa gas CO₂, H₂O, senyawa organik sederhana berupa asam-asam organik yang dapat berkontribusi pada peningkatan keasaman media degradasi. Faktor lain yang diperkirakan berkontribusi meningkatkan keasaman media degradasi adalah terjadinya pembelahan dan pertambahan ukuran sel bakteri membentuk koloni, sehingga pH media degradasi menurun. Proses tersebut terjadi setelah sel bakteri melewati masa adaptasi (*lag phase*) dan memasuki fase pertumbuhan (*log phase*) sampai stasioner (*stationer phase*). Perubahan pH ini tampak terlihat pada masa kontak 10 hari hingga 15 hari.

Degradasi limbah SMB dengan bakteri merupakan reaksi enzimatik dimana reaksi fermentasi tidak akan berlangsung baik apabila pH tidak berada pada daerah ideal dimana mikroba dapat tumbuh. Data relatif sama dengan Tabel 7.3, selengkapnya tentang perubahan pH media degradasi setiap perlakuan dilihat pada Lampiran 4, halaman 244. Uraian tentang perubahan pH media degradasi pada keempat perlakuan berbeda, teridentifikasi suspensi menggunakan mikrosimbion BF strain PHCDB20 memiliki rentang waktu penurunan pH paling lama dibandingkan dengan media degradasi menggunakan empat jenis suspensi lain yang diujikan. Menunjukkan bahwa sel bakteri dan koloni yang terdapat dalam suspensi BF strain PHCDB20 paling tahan terhadap perubahan lingkungan degradasi seperti perubahan pH, sehingga sel BF bekerja terus mendegradasi komponen hidrokarbon dengan demikian diperkirakan tingkat degradasi tertinggi ditunjukkan oleh sel BF simbiosis spons.

Data perubahan pH media degradasi bersesuaian dengan hasil pengamatan pembentukan gas dan identifikasi bau fermentasi media degradasi, hal ini menguatkan perkiraan awal bahwa mikrosimbion BF strain PHCDB20 adalah yang terbaik dalam mendegradasi limbah SMB. Perubahan pH suspensi berkaitan dengan pertumbuhan bakteri. Peningkatan keasaman suspensi menunjukkan terjadi peningkatan jumlah koloni dan bertambahnya ukuran sel bakteri. Pertambahan jumlah koloni dan ukuran

sel bakteri dalam media degradasi diperkirakan terjadi pada fase 2, yaitu *fase logaritmit* hingga memasuki fase stasioner, sehingga pada fase tersebut diperkirakan biodegradasi terhadap limbah SMB berlangsung maksimal. Hasil ini sesuai dengan kesimpulan penelitian sebelumnya. Hasil di atas diperkuat data biodegradasi minyak mentah yang menyebabkan perubahan senyawa hidrokarbon kedalam bentuk senyawa lain yang bersifat asam, (asam lemak dan alkohol). Disimpulkan bahwa senyawa hasil degradasi berpotensi dan atau merupakan salah satu faktor yang dapat menyebabkan kematian mikroba dan sel biomassa spons. Produk biodegradasi mikroba atau sel biomassa dapat menyebabkan penurunan pH media degradasi disebabkan karena setiap jenis mikroba/sel biomassa akan menghasilkan jenis asam organik yang berbeda. Pendapat lain mengatakan bahwa degradasi senyawa hidrokarbon akan menghasilkan senyawa-senyawa berupa senyawa intermediat dan produk akhir yang bercampur dengan medium dan menyebabkan penurunan pH campuran. penurunan pH yang dihasilkan kelima isolat menunjukkan hasil yang berbeda-beda bergantung pada persentase degradasi dan jenis bakteri yang mendegradasinya. Semakin meningkat aktivitas bakteri pendegradasi hidrokarbon, semakin meningkat pula jumlah asam-asam organik yang dihasilkan dan potensi penurunan pH media degradasi akan semakin besar. Peningkatan jumlah asam-asam organik hasil degradasi minyak mentah menyebabkan penurunan jumlah bakteri. Peningkatan jumlah asam organik hasil degradasi berbanding lurus dengan perubahan absorban suspensi media degradasi, sehingga dapat dikatakan bahwa perubahan pH media degradasi juga berpotensi sebagai penyebab matinya bakteri.

7.2.3 Analisis Kerapatan Optik suspensi media Biodegradasi SMB

Kerapatan optik (*Optical Density*) disingkat OD merupakan salah satu faktor yang menentukan keberhasilan biodegradasi hidrokarbon oleh mikroba, termasuk bakteri yang diisolasi dari spons. Faktor yang berkontribusi terjadinya kekeruhan suspensi dalam media degradasi saat proses degradasi berlangsung adalah, *pertama*, ukuran sel bakteri dan jumlah koloni dalam media degradasi; *kedua*, material produk degradasi komponen hidrokarbon dalam limbah SMB berupa senyawa asam organik.

Peningkatan nilai absorban suspensi media degradasi menunjukkan bahwa ukuran sel bakteri dan jumlah koloni semakin banyak, menunjukkan sel bakteri mampu beradaptasi dan mengembangkan diri dalam media terkontaminasi limbah SMB, berarti potensi banyaknya komponen hidrokarbon yang terdegradasi semakin tinggi. Peningkatan kekeruhan suspensi media degradasi menunjukkan bahwa berlangsung proses degradasi terhadap limbah SMB yang berarti bahwa terjadi reaksi enzimatik basa nitrogen yang dihasilkan oleh sel bakteri dengan komponen hidrokarbon limbah SMB. Tingkat kekeruhan media degradasi ditentukan dengan mengukur absorban setiap suspensi setelah pemisahan sisa limbah SMB yang tidak terdegradasi sebagaimana diperlihatkan pada Gambar 7.1, berikut:

Gambar 7.1 Contoh hubungan antara absorban suspensi media degradasi dengan jenis bakteri/suspensi sebagai biodegradator berdasarkan waktu kontak (hari), perlakuan 1

Berdasarkan contoh pada Gambar 7.1, menunjukkan bahwa urutan nilai absorban (tingkat kekeruhan) suspensi media degradasi adalah suspensi BF strain PHCDB20, suspensi campuran BSF, BS strain BAB-1684, KP dan BM spons *Callyspongia sp.* Hal ini mengindikasikan bahwa jumlah koloni bakteri simbiosis spons dalam media biodegradasi yang paling banyak adalah bakteri jenis *Bacillus subtilis* strain PHCDB20, sehingga dikatakan bahwa jenis bakteri ini paling siap dan kemungkinan paling kuat dalam mendegradasi komponen hidrokarbon dari SMB.

Gambar 7.2 Contoh hubungan antara absorbansi suspensi media degradasi dengan jenis suspensi berdasarkan waktu kontak (hari), perlakuan 2

Urutan nilai absorbansi suspensi media degradasi perlakuan 2 berdasarkan contoh pada Gambar 7.2, relatif sama dengan nilai absorbansi suspensi media degradasi perlakuan 1, kecuali suspensi BSF dan BS sedikit menurun. Hal ini menunjukkan bahwa kinerja koloni bakteri BS dalam mendegradasi limbah SMB dipengaruhi oleh ketersediaan O_2 . Hal ini terlihat bahwa jumlah sel bakteri sangat banyak karena mendapat asupan NPK, namun masa hidupnya ternyata relatif singkat karena sel-sel bakteri simbiosis spons ini tidak mendapat asupan O_2 . Akibat dari kondisi ini bakteri tidak dapat bertahan lama untuk melakukan aktivitas degradasi komponen hidrokarbon karena pada perlakuan 2 tidak dilakukan suplai oksigen melalui shaker, sedangkan pada Gambar 7.3, berikut:

Gambar 7.3 Contoh hubungan antara absorbansi suspensi media degradasi dengan jenis suspensi berdasarkan waktu kontak (hari), perlakuan 3

Terlihat nilai absorban suspensi media degradasi perlakuan 3 berdasarkan contoh Gambar 7.3, tidak jauh berbeda dengan nilai absorban suspensi media biodegradasi perlakuan 2, namun terlihat bahwa sel-sel bakteri dan koloni bekerja lebih stabil, sehingga diperkirakan dalam mendegradasi limbah SMB lebih tinggi. Hal ini terjadi karena pada perlakuan 3, ada suplai O₂ hanya saja terlihat bahwa jumlah sel bakteri lebih sedikit dibandingkan dengan perlakuan 1 dan 2, hal ini diperkirakan karena pada perlakuan 3, sel-sel bakteri kekurangan NPK. Membandingkan ketiga perlakuan tersebut di atas, menunjukkan bahwa sel-sel bakteri tersebut memerlukan asupan NPK agar ukuran sel bakteri bertambah dan aktif untuk membela sehingga jumlah sel akan semakin banyak untuk melakukan aktivitas biodegradasi komponen hidrokarbon dari limbah SMB demikian pula sel bakteri tersebut memerlukan suplai oksigen, bertujuan agar sel bakteri lebih stabil dan masa hidupnya lebih lama yang dapat berdampak positif pada dicapainya tingkat biodegradasi yang semakin tinggi.

Gambar 7.4 Contoh hubungan antara absorban suspensi media degradasi dengan jenis suspensi berdasarkan waktu kontak (hari), perlakuan 4

Pola yang tampak pada Gambar 7.4 menunjukkan tidak ada perbedaan berarti komponen alifatik yang mengalami degradasi, namun secara keseluruhan nilai absorban suspensi media degradasi perlakuan 4 menurun pada kelima jenis suspensi yang digunakan. Hal ini membuktikan bahwa ada pengaruh signifikan penambahan nutrisi NPK dan suplai O₂ terhadap kinerja koloni dalam mendegradasi komponen hidrokarbon limbah SMB.

Kinerja mikrosimbion dan biomassa spons *Callyspongia sp* berdasarkan parameter kekeruhan suspensi media degradasi hasil analisis nilai

absorban yang ditunjukkan menunjukkan bahwa mikrosimbion spons jenis BF strain PHCDB20 berkinerja paling tinggi dalam mendegradasi komponen hidrokarbon dalam limbah SMB lebih banyak, disusul mikrosimbion campuran BSF, kemudian BS strain BAB-1684, dan selanjutnya biakan murni *Pseudomonas sp* sebagai kontrol positif dan paling rendah adalah BM spons *Callyspongia sp*. Hasil ini menunjukkan adanya kesesuaian dua parameter sebelumnya yakni pembentukan gas dan identifikasi bau fermentasi serta perubahan nilai pH suspensi media degradasi. Analisis kerapatan optik (*optical density*) dengan mengukur kekeruhan media degradasi untuk mengetahui pola pertumbuhan mikrosimbion pendegradasi limbah minyak bumi merupakan metode yang direkomendasikan untuk digunakan sebagai parameter biodegradasi dalam melihat tingkat degradasi yang ditunjukkan oleh suatu jenis bakteri. Banyaknya biomassa spons/ukuran sel dan jumlah koloni bakteri di dalam media degradasi sebanding dengan besarnya intensitas cahaya yang diserap. Penentuan kekeruhan media degradasi dengan menggunakan spektrometri 20 D* pada panjang gelombang 600 nm. Semakin besar absorbansi suspensi media degradasi yang terukur, menunjukkan bahwa koloni/biomassa bakteri simbiosis mengalami peningkatan jumlah yang semakin banyak. Semakin besar nilai kerapatan optik media degradasi berarti kekeruhan semakin tinggi artinya jumlah komponen hidrokarbon terdegradasi semakin banyak. Secara umum kekeruhan media degradasi perlakuan 1 lebih tinggi dibandingkan perlakuan 2, 3 dan 4, menunjukkan bahwa penambahan nutrisi dan suplai oksigen berkontribusi positif dalam meningkatkan kinerja bakteri simbiosis/biomassa spons mendegradasi komponen hidrokarbon yang terkandung dalam limbah SMB (*sludge* minyak bumi).

Analisis pengaruh nutrisi dan O₂ terhadap kinerja mikrosimbion BF strain PHCDB20, (kinerja paling baik) berdasarkan perlakuan dapat dilihat pada contoh Gambar 7.5, berikut:

Gambar 7.5 Contoh hubungan antara absorban suspensi media degradasi dengan waktu kontak (hari) menggunakan suspensi BF strain PHCDB20 berdasarkan variasi perlakuan

Gambar 7.5, memperlihatkan bahwa kinerja mikrosimbion BF strain PHCDB20 perlakuan 1, lebih baik dibandingkan perlakuan 2, 3 dan 4, meskipun pola grafik berfluktuasi, menggambarkan bahwa perkembangan dan pertumbuhan sel bakteri simbion kurang stabil disebabkan karena proses adaptasi sel bakteri terhadap beberapa komponen hidrokarbon yang ada dalam suspensi media degradasi. Komponen dimaksud adalah mineral SMSS, nutrisi NPK, ketersediaan oksigen, dan sumber energi dari atom karbon yang terdegradasi, dimana penerimaan sel bakteri terhadap semua komponen material tersebut dilakukan tidak sekaligus karena bakteri memiliki empat tahapan pertumbuhan. Hal ini menunjukkan pula bahwa sel bakteri BF memiliki daya hidup lebih lama dalam lingkungan media terkontaminasi limbah SMB, disebabkan sel BF dapat memaksimalkan ketersediaan nutrisi NPK dan suplai oksigen untuk meningkatkan kinerja dalam merombak komponen hidrokarbon limbah SMB.

Hasil biodegradasi ini bersesuaian dengan beberapa biodegradasi yang dilakukan sebelumnya yang menunjukkan bahwa pola pertumbuhan bakteri ditentukan oleh banyak faktor dan akibat dari pertumbuhan tersebut, menyebabkan lingkungan pertumbuhan berubah. Perubahan lingkungan berpengaruh pada kinerja bakteri. Hasil kerja bakteri juga menyebabkan perubahan lingkungan degradasi yang berdampak pada lama tidaknya bakteri mampu bertahan hidup dalam situasi lingkungan yang ekstrim dan mengalami beberapa kali perubahan. Data kerapatan optik hasil pengukuran spektro dan hasil perhitungan dapat dilihat lebih lengkap pada Lampiran 4, halaman 242-243.

7.2.4 Tingkat Biodegradasi terhadap Limbah Sludge Minyak Bumi

Tingkat biodegradasi adalah seberapa banyak komponen hidrokarbon yang dapat didegradasi oleh suatu jenis bakteri tertentu baik tunggal maupun bersama-sama berdasarkan waktu kontak dalam hari. Banyaknya komponen hidrokarbon yang dapat dirombak tersebut bisa dihitung dalam satuan bobot, persen atau pengurangan konsentrasi hidrokarbon sebagai selisih awal dan akhir proses. Selama dalam masa biodegradasi terdapat beberapa parameter yang dapat diamati sebagai indikator biodegradasi komponen hidrokarbon limbah SMB oleh mikroorganisme (bakteri) dapat dilihat pada pembentukan gelembung udara media degradasi, terciumnya bau fermentasi, perubahan pH dan kekeruhan suspensi media degradasi. Biodegradasi berjalan apabila kondisi lingkungan dalam keadaan ideal untuk kinerja bakteri dan adanya kesesuaian semua indikator dengan tingkat degradasi yang terjadi. Eksperimen ini yang menggunakan lima jenis suspensi yang digunakan mampu mendegradasi limbah SMB dengan tingkat degradasi yang berbeda.

Tingkat degradasi dalam satuan persen limbah SMB diukur berdasarkan selisih antara bobot awal sebelum kontak dengan bobot akhir limbah *sludge* minyak bumi setelah kontak, dapat dilakukan 20 sampai dengan 35 hari, hasil yang diperoleh disebut Total *Sludge* Hidrokarbon (TSH), dihitung menggunakan metode *gravimetri* (bobot per bobot). Contoh tingkat biodegradasi mikrosimbion dan sel biomassa spons *Callyspongia sp* terhadap limbah SMB berdasarkan waktu kontak untuk perlakuan 1 dapat dilihat pada Gambar 7.6, berikut:

Gambar 7.6 Contoh hubungan antara tingkat degradasi limbah SMB dengan jenis suspensi berdasarkan waktu kontak (hari) pada perlakuan 1

Gambar 7.6, adalah contoh penggunaan lima jenis bakteri/suspensi yang diperoleh dari spons menunjukkan kinerja tertinggi mikrosimbion dan sel biomassa spons mendegradasi limbah SMB terjadi pada perlakuan 1 setelah 35 hari kontak berturut-turut oleh suspensi BF strain PHCDB20 (45,25 %), BSF campuran (43,65 %), BS strain BAB-1684 (41,43 %), *Pseudomonas sp* (35,42 %) dan terendah adalah suspensi sel biomassa *Callyspongia sp* (23,31 %). Perbedaan tingkat degradasi disebabkan karena respon bakteri simbiosis dan sel biomassa spons berbeda satu terhadap yang lain, disebabkan karena susunan basa nitrogen mikrosimbion/biomassa spons berbeda, sehingga membutuhkan kondisi lingkungan yang berbeda pula. Hal ini juga menunjukkan bahwa kinerja suatu bakteri dalam mendegradasi komponen hidrokarbon tidak sama karena dipengaruhi oleh banyak faktor baik eksternal maupun internal, termasuk mekanisme yang ditempuh bakteri dalam mendegradasi komponen hidrokarbon, oleh karenanya konsorsium bakteri karbonoklastik menjadi suatu alternatif yang layak dipertimbangkan untuk diterapkan agar diperoleh hasil maksimal dalam degradasi hidrokarbon khususnya limbah *sludge* minyak bumi. Fluktuasi tingkat biodegradasi yang terjadi dengan penggunaan beberapa jenis bakteri simbiosis/biomassa menunjukkan adanya perbedaan kinerja berdasarkan pertambahan waktu kontak ditunjukkan dalam Gambar 7.8 berikut:

Gambar 7.7 Hubungan antara perubahan tingkat degradasi limbah SMB dengan jenis suspensi berdasarkan waktu kontak (hari) pada perlakuan 1

Gambar 7.7, memperlihatkan variasi perubahan tingkat degradasi mikrosimbion dan biomassa spons berfluktuasi berdasarkan pertambahan waktu kontak. Tingkat degradasi TSH optimum terjadi pada waktu kontak 25 hari ditunjukkan oleh mikroba BF strain PHCDB20 dan waktu kontak 20 hari berturut-turut oleh mikroba BSF campuran, BS strain BAB-1684, kemudian *Pseudomanas sp* dan biomassa spons *Callyspongia sp*. Perbedaan tingkat degradasi yang ditunjukkan oleh setiap suspensi bakteri ini disebabkan oleh perbedaan kemampuan bakteri dalam melakukan adaptasi dengan lingkungan ekstrim yang baru dan juga oleh kemampuan bakteri tersebut bertahan dalam suasana lingkungan terkontaminasi, meskipun mekanisme yang ditempu oleh setiap bakteri termasuk mikro simbion spons relatif sama yakni reaksi oksidasi. Data dalam angka tingkat biodegradasi limbah SMB oleh beberapa jenis bakteri simbion dan biomassa spons dilihat pada Lampiran 5, halaman 245-250.

Perbedaan tingkat biodegradasi bakteri simbion/sel biomassa spons dalam mendegradasi limbah SMB ditentukan oleh karakter dan kemampuan bertahan mikroba dalam kondisi lingkungan ekstrim media hidrokarbon. Proses adaptasi mikroba dan sel biomassa spons dalam media limbah SMB menunjukkan pola pertumbuhan berbeda, ditentukan oleh respon mikroba dan sel biomassa spons terhadap semua komponen yang ada dalam media degradasi.

Perbedaan tingkat degradasi TSH dan titik optimum degradasi limbah SMB oleh bakteri simbion/biomassa spons yang bervariasi, menunjukkan bahwa terjadi variasi respon mikroba dan sel biomassa spons terhadap media degradasi, disebabkan karena kondisi lingkungan ideal yang dibutuhkan oleh bakteri simbion/biomassa spons berbeda. Perbedaan tersebut mengakibatkan adaptasi mikrosimbion/sel biomassa spons (SBS) berbeda. Adanya perbedaan adaptasi menyebabkan pola perkembangan koloni dan ukuran sel bakteri simbion berbeda, sehingga tingkat degradasi hidrokarbon limbah SMB berbeda. Hasil ini sesuai dengan pendapat sebelumnya yang menyatakan bahwa, perbedaan pola pertumbuhan masing-masing mikroba disebabkan oleh perbedaan ketahanan mikroba terhadap limbah atau polutan misalnya minyak mentah dan berakibat pada perbedaan kemampuan mikroba dalam mendegradasi komponen penyusun minyak mentah. Biodegradasi terhadap alkana

alifatik melalui mekanisme oksidasi alkana menjadi alkohol rantai pendek dan selanjutnya dioksidasi menjadi asam lemak. Asam lemak hasil biodegradasi alkana akan dioksidasi lebih lanjut membentuk asam asetat dan asam propionat, sehingga dapat menurunkan nilai pH.

Perbedaan tingkat degradasi terhadap limbah SMB menggunakan beberapa jenis mikroba dan biomassa spons juga terjadi dengan perlakuan berbeda ditunjukkan pada contoh Gambar 7.8 berikut:

Gambar 7.8 Contoh hubungan antara tingkat degradasi limbah SMB dengan jenis suspensi berdasarkan perlakuan pada waktu kontak 35 hari

Berdasarkan contoh Gambar 7.8, menunjukkan adanya perbedaan tingkat degradasi berdasarkan perlakuan dan jenis mikroba/biomassa spons yang digunakan dalam mendegradasi limbah SMB. Tingkat degradasi tertinggi ditunjukkan oleh perlakuan 1, disusul perlakuan 2, 3 dan 4, sedangkan dilihat dari aspek jenis mikroba/biomassa spons, tingkat biodegradasi tertinggi diperlihatkan oleh mikroba BF strain PHCDB20.

Perbedaan tingkat degradasi dari 4 metode perlakuan yang disebabkan karena pengaruh pemberian nutrisi NPK dan suplai O_2 dalam media degradasi dapat meningkatkan kinerja bakteri simbiosis dan sel biomassa spons dalam mendegradasi limbah SMB. Hal ini terlihat pada penurunan tingkat degradasi mikroba BF strain PHCDB20 terhadap limbah SMB berdasarkan perlakuan berturut-turut: perlakuan 1 (45,24 %), perlakuan 2 (40,15 %), perlakuan 3 (38,80 %) dan perlakuan 4 (39,10 %). Hasil tersebut menguatkan asumsi bahwa respon dan pola pertumbuhan mikroba dan sel biomassa spons dalam media degradasi berbeda, berakibat pada adaptasi mikroba dan sel biomassa spons (SBS) terhadap komponen polutan dalam limbah SMB juga berbeda. Perbedaan ini menghasilkan

tingkat degradasi terhadap limbah SMB akan berbeda. Peningkatan kinerja mikroba/SBS dalam mendegradasi polutan SMB disebabkan karena kemampuan mikroba/ SBS menjadikan NPK sebagai sumber nutrisi dan ketersediaan O₂ memberi pengaruh pada aktifitas enzim oksigenase untuk melakukan reaksi enzimatik. Tidak tersedianya nutrisi yang cukup berakibat pada lambatnya pembelahan koloni dan tidak berkembangnya sel bakteri, keadaan tersebut diperburuk jika suplai oksigen tidak tersedia, karena sel mikroba/SBS yang bertahan hidup tidak mampu mengaktifkan enzim untuk berlangsungnya reaksi enzimatik mendegradasi komponen hidrokarbon limbah SMB. Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat dikatakan bahwa perlakuan yang paling baik dalam penerapan metode biodegradasi adalah dengan penambahan nutrisi NPK pada mikroba untuk membantu proses pembelahan sel dan pemberian oksigen atau Logam berat agitasi agar sel-sel bakteri dapat bertahan lebih lama dalam lingkungan ekstrim terkontaminasi limbah hidrokarbon, sedangkan untuk bakteri yang berkinerja paling baik dalam mendegradasi komponen hidrokarbon dalam SMB dari 5 jenis suspensi mikroba simbiosis spons yang diuji, diperlihatkan oleh bakteri mikroba *Bacillus flexus* strain PHCDB20 disusul oleh bakteri konsorsium *Bacillus Subtilis* strain BAB-1684 dan *Bacillus flexus* strain PHCDB20, selanjutnya oleh bakteri *Bacillus Subtilis* strain BAB-1684 dan terakhir oleh Biomassa Spons *Callyspongia sp.*, sedangkan biakan murni bakteri *Pseudomonas sp* berkinerja relatif sama dengan kinerja *Bacillus Subtilis* strain BAB-1684.

7.3 Status komponen kimia hidrokarbon limbah *sludge* minyak bumi (SMB) sebelum dan setelah biodegradasi

Komponen hidrokarbon dalam sampel dapat diamati dengan melihat waktu retensi. Apabila waktu retensi sama sebelum dan setelah kontak (proses biodegradasi) pada sampel yang sama, menunjukkan jenis komponen hidrokarbon tersebut sama. Jika terjadi perubahan kelimpahan setelah kontak, diasumsikan bahwa konsentrasi komponen hidrokarbon tersebut mengalami perubahan. Hal ini terjadi karena mikroba/SBS saat kontak mampu menjadikan karbon dalam limbah sebagai bahan baku/nutrisi untuk selanjutnya diubah menjadi energi bersama dengan nitrogen. Kemampuan bakteri mengonsumsi karbon ini identik dengan terdegradasinya komponen hidrokarbon dalam limbah SMB dan kinerja

ini disebut tingkat biodegradasi atau performa bakteri dalam mendegradasi komponen hidrokarbon sebagai polutan, namun dalam kenyatannya meskipun terjadi degradasi atau perombakan komponen hidrokarbon, namun tidak semua karbon dalam limbah SMB dapat dimanfaatkan oleh bakteri sebagai sumber energi disebabkan oleh banyak faktor. Faktor tersebut, diantaranya (1) beberapa jenis hidrokarbon memiliki tingkat toksisitas tinggi, sehingga bakteri tidak dapat bertahan lama dalam lingkungan ekstrim tersebut, (2) Produk biodegradasi adalah senyawa organik sederhana yang dalam proses perubahannya dapat menyebabkan media degradasi (reaktor) bertambah asam atau pH menurun, dimana pada kondisi tersebut jika bakteri yang digunakan tidak dapat bertahan dalam suasana asam, sehingga menyebabkan sel-sel bakteri tidak dapat membelah dan akhirnya mati, (3) rasio hidrokarbon sebagai substrak tidak sebanding dengan jumlah sel bakteri yang digunakan sebagai material degradator.. Contoh proses biodegradasi limbah SMB oleh mikroba/sel biomassa spons, sebelum dan setelah kontak dapat dilihat pada kromatogram kelimpahan komponen berdasarkan waktu retensi sebagaimana ditunjukkan dalam Gambar 7.9, berikut:

Gambar 7.9 Kromatogram hubungan kelimpahan komponen dalam limbah SMB dengan waktu retensi (menit) sebelum kontak dengan suspensi mikrosimbion dan sel biomassa spons *Callyspongis sp.*, [tanda x : pristana (C_{19}) dan Y: phytana (C_{20})]

Faktor-faktor tersebut di atas dapat dikatakan sebagai faktor pembatas kinerja bakteri dalam mendegradasi komponen hidrokarbon dalam limbah SMB, meskipun faktor pendukung lainnya telah dipenuhi seperti penambahan NPK, suplai oksigen, suhu yang ideal dan lain sebagainya. Data status kimia komponen hidrokarbon dalam limbah SMB dengan melihat waktu retensi, kelimpahan dan persentasi jenis komponen

terhadap komponen total melalui persen luas puncak, hasil pengukuran GC-MS sebelum kontak dengan suspensi mikroba/SBS teridentifikasi 22 jenis komponen hidrokarbon (kemiripan ≥ 91 %), terbagi atas komponen hidrokarbon alifatik membentuk deret homolog dengan jumlah atom karbon nC10-nC30 jumlah (85,979 %); dan 2 jenis hidrokarbon aromatik, yaitu 2,7-dimethyl naphthalena dan 1,4-dimethyl azulena (3,028 %), keduanya merupakan monosiklik aromatik hidrokarbon dan komponen lain mencapai (10,993 %). Komponen lain yang dimaksud disini adalah terdiri atas komponen non alifatik dan non aromatik serta zat pengotor lainnya yang ada di dalam minyak bumi, yang dalam beberapa sumber lain dikatakan tidak melebihi 10 % dari total komponen. Perbandingan distribusi hidrokarbon alifatik dan aromatik berbeda dalam setiap material, (sedimen, minyak mentah, *sludge* minyak bumi, dan air laut), tergantung pada proses yang terjadi terhadap komponen tersebut, demikian pula keberadaan kontaminan dan komposisi komponen hidrokarbon dalam suatu material dapat terjadi secara alamiah atau merupakan kontaminan dari buangan tertentu. Data lengkap tentang 22 macam hidrokarbon alifatik dalam limbah SMB ditunjukkan dalam Lampiran 6, halaman 251, tentang kromatogram perubahan luas puncak dan konsentrasi komponen hidrokarbon alifatik.

Perubahan kelimpahan komponen hidrokarbon dalam limbah SMB setelah 35 hari masa kontak untuk 5 jenis bakteri/suspensi mikrosimbion spons untuk perlakuan 1, ditunjukkan dalam Gambar 7.10, berikut:

Gambar 7.10 Kromatogram hubungan antara kelimpahan dengan waktu retensi (menit) limbah SMB setelah 35 hari kontak dengan suspensi BS strain BAB-1684, , [tanda x : pristana (C₁₉) dan Y: phytana (C₂₀)]

Membandingkan kelimpahan (tinggi puncak) setiap komponen alifatik dalam limbah SMB sebelum proses biodegradasi berlangsung (Gambar 7.9) dengan kelimpahan setelah proses biodegradasi berlangsung dalam waktu 35 hari menggunakan bakteri *Bacillus subtilis* strain BAB-1684 yang diisolasi dari spons *Callyspongia sp* (Gambar 7.10), terlihat bahwa ada penurunan kelimpahan yang berarti bahwa ada penurunan konsentrasi komponen alifatik. Penurunan konsentrasi ini tidak signifikan juga berarti bahwa jenis bakteri yang digunakan dalam biodegradasi ini tidak terlalu kuat dalam mendegradasi komponen alifatik dalam limbah SMB.

Gambar 7.11 Contoh kromatogram hubungan antara kelimpahan dengan waktu retensi (menit) limbah SMB setelah 35 hari kontak dengan suspensi BF strain PHCDB20, , [tanda x : pristana (C_{19}) dan Y: phytana (C_{20})]

Rasio perubahan kelimpahan komponen alifatik dalam limbah SMB (Gambar 7.11) dibandingkan dengan (Gambar 7.9), menunjukkan terjadi penurunan kelimpahan komponen hidrokarbon alifatik yang signifikan setelah kontak dengan bakteri *Bacillus Flexus strain* PHCDB20, dengan masa kontak selama selama 35 hari. Penurunan kelimpahan komponen hidrokarbon ini dicapai oleh bakteri jenis BF yang menunjukkan bahwa bakteri ini berkinerja lebih kuat dalam mendegradasi komponen hidrokarbon alifatik dibandingkan dengan bakteri BS strain BAB-1684, meskipun keduanya diisolasi dari spons yang sama yakni, *Callyspongis sp*.

Gambar 7.12 Contoh kromatogram hubungan antara kelimpahan dengan waktu retensi (menit) limbah SMB setelah 35 hari kontak dengan suspensi BSF, [tanda x : pristana (C_{19}) dan Y: phytana (C_{20})]

Senada dengan kinerja bakteri lainnya, terlihat adanya perubahan kelimpahan komponen hidrokarbon alifatik ditunjukkan oleh tinggi puncak setiap komponen berturut-turut ditunjukkan pada Gambar Gambar 7.12 – 7.14, jika dibandingkan dengan Gambar 7.9.

Gambar 7.13 Kromatogram hubungan antara kelimpahan dengan waktu retensi (menit) limbah SMB setelah 35 hari kontak dengan suspensi biomassa spons *Callyspongia sp.*, [tanda x : pristana (C_{19}) dan Y: phytana (C_{20})]

Gambar 7.14 Kromatogram hubungan antara kelimpahan dengan waktu retensi (menit) limbah SMB setelah 35 hari kontak dengan suspensi

biakan murni *Pseudomonas sp.*, [tanda x : pristana (C₁₉) dan Y: phytana (C₂₀)]

Perubahan tinggi puncak ini, menunjukkan adanya penurunan konsentrasi setiap komponen alifatik limbah SMB sebelum dan setelah proses biodegradasi. Penurunan kelimpahan ini merupakan hasil kerja degradasi yang dilakukan oleh bakteri sebagai degradatos komponen hidrokarbon dalam limbah *sludge* minyak bumi.

Berdasarkan kelimpahan yang ditunjukkan pada Gambar 7.10 – 7.14, dapat diurutkan tingkat degradasi mikroba dan sel biomassa spons (SBS) dalam menurunkan konsentrasi komponen hidrokarbon dalam limbah SMB hasil pengukuran dengan GC-MS, khususnya kelimpahan komponen terhadap nilai waktu retensi yang sama, berturut-turut tingkat degradasi tertinggi ditunjukkan oleh mikroba *Bacillus Flexus* strain PHCDB20, campuran bakteri *Bacillus Flexus* strain PHCDB20 dan BS strain BAB-1684 dalam rasio suspensi 1:1, biakan murni *Pseudomonas sp* dan biomassa spons *Callyspongia sp.* Hasil ini menunjukkan pula bahwa semua jenis mikroba yang diisolasi dari spons *Callyspongia sp* dan biomassa yang diekstraksi juga dari spons yang sama dapat mendegradasi komponen hidrokarbon limbah SMB, dimana mikroba BF strain PHCDB20 memiliki kinerja paling tinggi dibandingkan jenis mikroba lainnya. Perbedaan tingkat degradasi setiap jenis bakteri disebabkan oleh banyak faktor, baik faktor internal bakteri tersebut maupun karena faktor dari modifikasi metode degradasi yang diterapkan. Faktor yang berpengaruh tersebut; (1) jenis mikroba, (2) jenis komponen polutan dalam media degradasi (rantai terbuka atau rantai siklik), (3) panjang pendeknya rantai karbon alifatik yang didegradasi, (4) ketahanan mikroba terhadap fluktuasi lingkungan media degradasi, dan (5) respon mikroba terhadap komponen polutan limbah hidrokarbon.

Terdapat Tanda “X”, yang terlihat pada Gambar 7.9 – 7.14, adalah komponen Pristana (Hopana) dengan waktu retensi (wt) 17,39 dan tanda (Y) adalah komponen Pythana (Isoprena) dengan (wt) 19,467. Komponen hidrokarbon jenis pristana (pr = C₁₉) dan phytana (ph = C₂₀) adalah hidrokarbon sebagai penanda atau penciri yang selalu ada pada setiap jenis minyak bumi yang dieksplorasi. Rasio pr : ph pada CPI umumnya pada angka 0,6 – 2,5. Kualitas minyak bumi dapat dilihat dari rasio pr/ph. Semakin rendah rasio pr:ph menunjukkan kualitas minyak bumi semakin

baik. Hasil ini sesuai dengan beberapa hasil penelitian sebelumnya yang didasarkan pada penurunan kelimpahan komponen hasil pengukuran GC-MS.

Dikenal 2 macam kelompok komponen hidrokarbon yang umum menyusun minyak bumi, pertama komponen hidrokarbon alifatik, yakni rantai terbuka dan rantai siklik. Kedua jenis hidrokarbon alifatik ini memiliki tingkat kesukaran yang berbeda dalam proses degradasi oleh bakteri. *Sludge* minyak bumi merupakan lumpur minyak yang terlihat tersedimentasi pada tempat-tempat penampungan minyak hasil pengolahan. Lumpur minyak ini adalah hasil samping pengolahan minyak bumi menjadi berbagai jenis produk bahan bakar. Hasil samping dari produk pengolahan minyak bumi dikategorikan sebagai limbah, baik yang berwujud cair, padat ataupun semi padat. Limbah minyak bumi semi padat atau padat dikenal dengan nama *sludge*, sehingga komponen penyusun limbah *sludge* minyak bumi (SMB) memiliki komponen hidrokarbon relatif sama dengan komponen hidrokarbon dalam minyak mentah yang diolah. Hasil pengolahan data GC-MS juga memberi informasi tentang perubahan konsentrasi komponen hidrokarbon dalam limbah SMB dalam range yang berbeda tergantung jenis mikroba/SBS yang digunakan dalam media degradasi dan variasi perlakuan, misalnya penambahan NPK, dan suplai O₂, atau kombinasi keduanya. Media degradasi yang ideal untuk jenis mikroba/sel biomassa tertentu, akan memberikan hasil degradasi yang maksimal ditandai dengan penurunan konsentrasi komponen hidrokarbon setelah degradasi dibandingkan konsentrasi awal, bahkan dapat terjadi satu jenis komponen hidrokarbon terdegradasi seratus persen pada penggunaan mikroba tertentu sedangkan jenis hidrokarbon lainnya tidak terdegradasi.

Degradasi komponen hidrokarbon limbah SMB oleh mikrosimbion dan SBS dengan perlakuan berbeda mengakibatkan perubahan komposisi dan konsentrasi komponen hidrokarbon baik alifatik maupun aromatik. Limbah SMB yang diperoleh dari PT. Caltex Pasific Indonesia, Dumai Riau, mengandung 20 jenis hidrokarbon alifatik rantai lurus dengan jumlah atom karbon C₁₀ – C₃₀ (hasil pengukuran dengan GC-MS), Lihat Lampiran 5, halaman 145-150. Rasio atom karbon dengan atom hidrogen membentuk rumus C_nH_{2n+2}. Ke-20 jenis alkana ini dipilih 5 jenis

berdasarkan deret homolog yang dibentuk dengan kelipatan 5 atom karbon sehingga diperoleh 5 jenis hidrokarbon, yakni: Dekana ($C_{10}H_{22}$), Pentadekana ($C_{15}H_{32}$), Eikosana ($C_{20}H_{42}$), Pentakosana ($C_{25}H_{52}$), dan Triakosana ($C_{30}H_{60}$) untuk dijelaskan lebih rinci mengenai tingkat degradasi yang terjadi. Ke-5 jenis hidrokarbon tersebut setelah kontak dengan jenis bakteri simbiosis dan biomassa spons, terlihat mengalami perubahan kelimpahan atau penurunan konsentrasi masing-masing komponen, dimana tingkat penurunan konsentrasi tersebut ditunjukkan berturut-turut dalam Gambar 7.15 – 7.19, berikut:

Gambar 7.15 Contoh hubungan antara konsentrasi hidrokarbon alifatik penyusun limbah SMB dengan waktu kontak (hari) hasil degradasi suspensi BS strain BAB-1684 (perlakuan 1)

Keterangan:

Gambar 7.15 – 7.19 merupakan hasil biodegradasi perlakuan 1, yang ditunjukkan khusus untuk 5 jenis alkana yang menyusun limbah SMB dengan menggunakan 5 jenis bakteri dan biomassa yang diisolasi dari spons *Callyspongia sp.* Perlakuan 1, yakni modifikasi biodegradasi yang dijalankan dengan adanya penambahan NPK dan dilakukan suplai oksigen dengan cara di Shaker pada putaran 45 rpm dan dilakukan pada suhu kamar selama biodegradasi berlangsung.

Gambar 7.16 Contoh hubungan antara konsentrasi hidrokarbon alifatik penyusun limbah SMB dengan waktu kontak (hari) hasil degradasi suspensi BF strain PHCDB20 (perlakuan 1)

Pola grafik Gambar 7.15 – 7.19 relatif sama, yakni adanya penurunan signifikan konsentrasi dari masing-masing komponen hidrokarbon terjadi pada masa kontak 20 hari, meskipun tampak bahwa nilai penurunan konsentrasi berbeda setiap jenis komponen. Pada gambar tersebut, juga terlihat bahwa jenis hidrokarbon dengan penurunan konsentrasi paling besar adalah hidrokarbon rantaim yang lebih pendek yakni Dekana, disusul Pentadekana dan paling kecil penurunan konsentrasinya ditunjukkan oleh komponen Triakontana, meskipun adanya penurunan ekstrim untuk Pentakosana.

Gambar 7.17 Hubungan antara konsentrasi hidrokarbon alifatik penyusun limbah SMB dengan waktu kontak (hari) hasil degradasi suspensi BSF campuran (perlakuan 1)

Gambar 7.15 – 7.19, juga memperlihatkan kinerja ke-5 jenis bakteri simbiosis spons yang digunakan berbeda satu terhadap lainnya untuk ke-5 jenis hidrokarbon ini, yang menunjukkan bahwa

daya degradasi setiap bakteri terhadap jenis hidrokarbon berbeda-beda.

Gambar 7.18 Hubungan antara konsentrasi hidrokarbon alifatik penyusun limbah SMB dengan waktu kontak (hari) hasil degradasi suspensi Biomassa spons *Callyspongia sp* (perlakuan 1)

Perbedaan penerunan konsentrasi untuk jenis hidrokarbon ini sesuai dengan pendapat sebelumnya bahwa hidrokarbon dengan rantai yang lebih panjang dan lurus biasanya lebih sulit didegradasi dibandingkan dengan hidrokarbon rantai pendek, meskipun terlihat bahwa terjadi penurunan ekstrim konsentrasi Pentakosana yang cenderung lebih besar dibandingkat penurunan konsentrasi jenis alkana lainnya, meskipun alkana lainnya memiliki jumlah atom karbon yang lebih pendek.

Gambar 7.19 Hubungan antara konsentrasi hidrokarbon alifatik penyusun limbah SMB dengan waktu kontak (hari) hasil degradasi suspensi *Pseudomonas sp* (perlakuan 1)

Perbedaan penurunan konsentrasi setiap jenis hidrokarbon untuk satu jenis bakteri, disebabkan oleh kesesuaian bakteri tersebut dalam mendegradasi dengan jenis hidrokarbon yang ada. Hal ini memperlihatkan bahwa model kerja dan mekanisme degradasi yang ditempu oleh setiap jenis hidrokarbon dapat berbeda dengan jenis hidrokarbon lainnya karena kerja bakteri dalam biodegradasi dipengaruhi oleh banyak faktor.

Hasil analisis penurunan konsentrasi setiap komponen hidrokarbon dengan penggunaan jenis mikroba berbeda, dapat disimpulkan bahwa penurunan konsentrasi berbanding lurus dengan waktu kontak antara limbah SMB dengan jenis mikroba/SBS yang digunakan, namun nilai penurunan konsentrasi komponen alifatik berbeda untuk penggunaan jenis mikroba yang berbeda. Penurunan konsentrasi dari tinggi ke rendah berturut-turut pada penggunaan mikroba jenis BF strain PHCDB20, BSF campuran, BS strain BAB-1684, biakan murni *Pseudomonas sp* dan sel biomassa spons. Data dalam angka dapat dilihat pada Lampiran 6, halaman 251.

Hasil tersebut menunjukkan bahwa kinerja tertinggi mendegradasi komponen hidrokarbon alifatik dalam limbah SMB adalah mikroba jenis BF strain PHCDB20. Pola penurunan konsentrasi hidrokarbon tidak sama antara setiap penggunaan jenis bakteri/SBS yang berbeda. Secara umum jumlah penurunan konsentrasi hidrokarbon dalam limbah SMB semakin meningkat dengan bertambahnya waktu kontak. Faktor waktu kontak merupakan salah satu faktor yang menentukan dalam penurunan konsentrasi komponen hidrokarbon dalam limbah SMB, salah satu penyebabnya adalah sel mikroba dan jumlah koloni mengalami fase perkembangan, dimana setiap fase perkembangan memerlukan waktu adaptasi berbeda dan dapat berjalan dalam waktu beberapa hari. Komponen dekana mengalami penurunan konsentrasi paling besar dari penggunaan 5 jenis mikroba/SBS berbeda. Berdasarkan jumlah atom karbon penyusunnya, dekana merupakan komponen alifatik penyusun limbah SMB dengan jumlah atom karbon paling sedikit, sehingga lebih mudah didegradasi oleh bakteri simbiosis/SBS, penurunan ini terjadi pada masa kontak 20-25 hari, artinya pada waktu kontak tersebut, bakteri simbiosis/SBS berada pada fase pertumbuhan, yaitu ukuran sel membesar dan jumlah koloni bertambah dengan demikian kinerja dalam bakteri

simbion/SBS mendegradasi komponen hidrokarbon mengalami peningkatan, akibatnya komponen yang lebih sederhana (jumlah atom karbon sedikit) mengalami degradasi paling tinggi.

Hasil analisis data pengukuran GC-MS terhadap komponen hidrokarbon dalam limbah SMB untuk menentukan tingkat penurunan konsentrasi hidrokarbon limbah SMB menggunakan degradator suspensi BF strain PHCDB20 berdasarkan variasi perlakuan ditunjukkan dalam Gambar 7.20, sebagai berikut:

Gambar 7.20 Contoh hubungan konsentrasi hidrokarbon alifatik penyusun limbah SMB dengan perlakuan hasil degradasi suspensi BF strain PHCDB20

Gambar 7.20, khususnya perlakuan 1, menggunakan suspensi mikrosimbion BF strain PHCDB20 merupakan metode terbaik untuk menurunkan konsentrasi komponen alifatik dalam limbah SMB dibandingkan 3 metode perlakuan lainnya. Penurunan konsentrasi komponen hidrokarbon alifatik diukur setelah masa kontak berlangsung selama 35 hari, dengan penurunan rata-rata perlakuan 1 lebih tinggi dibandingkan perlakuan 2, 3 dan 4, berarti bahwa perlakuan 1 (ada penambahan NPK dan suplai oksigen) merupakan metode paling baik dibandingkan metode lainnya. Penurunan konsentrasi komponen alifatik setelah degradasi pada penggunaan bakteri simbion yang sama namun, range penurunan konsentrasi lebih sempit. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian nutrisi NPK dan suplai oksigen dapat meningkatkan kinerja

bakteri simbiosis/SBS dalam mendegradasi komponen hidrokarbon dalam limbah SMB. Ketersediaan nutrisi dan kecukupan oksigen dalam media degradasi dapat meningkatkan ukuran sel bakteri dan sekaligus koloni bakteri tersebut membelah dengan demikian jumlah sel yang berkerja mendegradasi komponen hidrokarbon semakin banyak yang pada akhirnya dapat mendegradasi komponen hidrokarbon limbah SMB lebih banyak, demikian pula konsentrasi setiap komponen hidrokarbon limbah SMB yang terdegradasi menjadi maksimum. Data angka dapat dilihat pada Lampiran 6 halaman 251.

Persentase penurunan konsentrasi komponen hidrokarbon dalam limbah SMB berdasarkan perlakuan diperlihatkan pada Gambar 7.21, berikut:

Gambar 7.21 Penurunan konsentrasi hidrokarbon penyusun limbah SMB berdasarkan perlakuan setelah kontak selama 35 hari

Berdasarkan data Gambar 7.21, dapat disimpulkan bahwa perlakuan 1 merupakan metode paling baik dalam menurunkan konsentrasi komponen hidrokarbon dalam limbah SMB. Analisis penurunan konsentrasi 7 jenis komponen hidrokarbon dalam limbah SMB (5 jenis hidrokarbon alifatik dan 2 jenis aromatik) dari 22 jenis

hidrokarbon yang teridentifikasi, memperlihatkan persentasi penurunan konsentrasi tertinggi ditunjukkan perlakuan 1. Penurunan konsentrasi total *sludge* hidrokarbon (TSH) dalam limbah SMB dihitung dalam satuan konsentrasi (ppm), terbesar dicapai oleh perlakuan 1, yakni pada penambahan NPK dan suplai oksigen (dishaker), sehingga disimpulkan bahwa perlakuan 1 merupakan yang terbaik, karena dapat menurunkan konsentrasi komponen hidrokarbon baik alifatik maupun aromatik dalam limbah SMB paling tinggi jika dibandingkan dengan penurunan konsentrasi komponen hidrokarbon jenis yang sama pada perlakuan 2, 3, dan 4. Perlakuan penambahan NPK dan agitasi pada suhu kamar terbaik khusus untuk biodegradasi jenis alkana dari sampel limbah SMB dengan jenis bakteri *Bacillus Flexus* strain PHCDB20. Ada 2 komponen penentu terjadinya degradasi, yaitu komponen hidrokarbon sebagai material terdegradasi bertindak sebagai substrak dan mikroba sebagai degradator yang memproduksi zat berkarakter enzim, sehingga reaksi oksidasi yang terjadi merupakan reaksi enzimatik dengan menggunakan jenis enzim oksidatif, yakni enzim oksidase. Produk degradasi adalah material terdegradasi mengalami perombakan molekul menghasilkan senyawa sederhana. Perombakan molekul hidrokarbon menjadi senyawa organik berlangsung berkesinambungan selama degradator (enzim) mendapat suplai O_2 dan nutrien yang cukup, sehingga dapat berfungsi sebagai akseptor elektron eksternal. Hidrokarbon yang terdegradasi secara beruntun oleh sejumlah enzim, dengan kehadiran oksigen dan kecukupan nutrien akan membebaskan gas CO_2 , air dan molekul organik sederhana hasil degradasi berupa senyawa organik bersifat asam, menyebabkan terjadinya perubahan pH pada media degradasi. Perubahan pH media degradasi merupakan faktor pembatas, sehingga proses biodegradasi komponen hidrokarbon oleh bakteri dapat berhenti.

Mekanisme degradasi komponen hidrokarbon limbah SMB oleh bakteri simbiosis/SBS dapat dikatakan rumit, oleh karena itu pemahaman mekanisme degradasi dapat ditinjau dalam tiga sudut pandang berbeda, yakni: (1) tinjauan aspek mikrobiologi, (2) tinjauan biokimia dan (3) tinjauan kimia organik, dimana ketiganya saling melengkapi satu terhadap lainnya dalam memberikan pemahaman yang lengkap tentang

biodegradasi hidrokarbon, sedangkan faktor yang berpengaruh tetap dilibatkan dalam setiap aspek ini.

- 1 Pandangan mikrobiologi yakni bahwa perkembangan sel bakteri dan pembelahan sel serta pembentukan koloni terjadi secara bertahap dalam empat fase berbeda, sehingga waktu kontak (interaksi) bakteri dengan komponen hidrokarbon menjadi faktor yang menentukan. Dapat dikatakan bahwa waktu kontak atau masa interaksi antara substrak (hidrokarbon) dengan material degradator (bakteri produsen enzim) tidak identik sama persis dengan proses biodegradasi yang terjadi, hal ini disebabkan karena bakteri mengalami fase pertumbuhan dan perkembangan, dimana dalam fase awal (adaptasi) dianggap bahwa proses biodegradasi belum terjadi.
- 2 Tinjauan biokimia yakni aktifnya enzim oksigenase karena kecukupan nutrisi dan suplai oksigen akan meningkatkan kinerja bakteri/SBS untuk memproduksi zat berkarakter enzim sebagai bentuk respon bakteri terhadap adanya predator dalam habitatnya, dalam hal ini adalah limbah hidrokarbon. Produksi enzim mempunyai hubungan dengan kemampuan yang tinggi dalam mengurai senyawa hidrokarbon.
- 3 Tinjauan kimia organik dilihat dari aspek mekanisme reaksi, yakni komponen alifatik mengalami reaksi oksidasi menghasilkan produk alkohol dengan adanya oksigen, dimana bilangan oksidasi atom karbon dari -3 menjadi -1, dan apabila teroksidasi lebih lanjut akan menghasilkan senyawa aldehyd (bilangan oksidasi atom karbon berubah dari -1 menjadi +1) dan sebagian menjadi keton (bilangan oksidasi atom karbon -1 menjadi +2). Produk aldehyd dapat mengalami reaksi oksidasi lebih lanjut menghasilkan asam karboksilat (bilangan oksidasi atom karbon +1 menjadi +3), selanjutnya senyawa karboksilat yang dihasilkan masuk dalam siklus β -oksidasi, sehingga senyawa tersebut terurai menghasilkan energi dan gas CO_2 .

Penambahan jumlah inokulum bakteri diketahui dapat menaikkan tingkat degradasi dan menyebabkan terdegradasinya senyawa alifatik, maupun senyawa aromatik akan lebih besar. Hal lain disebabkan karena enzim yang dihasilkan lebih bervariasi dalam jenis dan tingkat penguraian

serta jumlah enzim yang lebih banyak dibanding dengan biakan tunggal sehingga penguraian lebih cepat. Selain 2 hal diatas, kondisi lingkungan fisik seperti temperatur dan aerasi serta faktor mekanik seperti pengadukan juga sangat mempengaruhi besarnya persentasi degradasi. Senyawa hidrokarbon yang tertumpah di tanah/alam akan mengalami degradasi secara alamiah karena faktor-faktor lingkungan, meskipun laju degradasinya berlangsung dalam waktu bervariasi dan cenderung lebih lambat dibandingkan dengan proses biodegradasi yang terprogram dalam suatu metode tertentu yang dilakukan dalam kondisi eksperimen yang terisolasi dari kontaminan lainnya, sehingga perubahan komponen hidrokarbon dan kerja bakteri dapat dikontrol dengan pasti, bahwa perubahan tersebut (proses biodegradasi) merupakan kinerja hanya disebabkan oleh bakteri. Proses degradasi dalam lingkungan bebas di alam yang berlangsung secara alamiah tersebut meliputi penguapan, teremulsi dalam air, teradsorpsi pada partikel padat, tenggelam dalam perairan serta mengalami biodegradasi oleh mikroba pengguna hidrokarbon.

Substansi suatu degradasi terhadap komponen hidrokarbon adalah bagaimana perubahan komponen tersebut menjadi senyawa organik sederhana. Proses perombakan komponen hidrokarbon oleh suatu mikroba dapat ditinjau dari kajian teoritis biokimia melalui reaksi enzimatik dan kajian kimia organik melalui mekanisme reaksi oksidasi yang melibatkan molekul oksigen. Komponen hidrokarbon dalam suatu material seperti limbah *sludge* minyak bumi umumnya terbagi dalam 2 golongan, yakni senyawa alifatik dan aromatik. Degradasi komponen alifatik (alkana) berbeda dengan degradasi komponen aromatik. Mekanisme reaksi senyawa alifatik (alkana) melibatkan pembentukan alkohol, aldehyd dan asam lemak. Asam lemak dipecah, CO₂ dilepaskan dan membentuk asam lemak baru yang merupakan 2 unit karbon yang lebih pendek dari molekul induk, proses ini dikenal sebagai proses beta (β) oksidasi, sedangkan biodegradasi terhadap komponen aromatik dibahas lebih rinci pada bab berikutnya dalam buku ini.

Proses biodegradasi hidrokarbon secara umum berlangsung dengan menempuh mekanisme biologi kemudian masuk dalam mekanisme kimia organik kombinasi dengan jalur biokimia dan selanjutnya masuk kembali dalam jalur biologi, demikian proses

biodegradasi ini berjalan. Mekanisme melalui jalur β -oksidasi asam lemak akan diubah menjadi asetil ko-A dan masuk ke dalam siklus asam sitrat, diubah menjadi CO₂ dan energi, menunjukkan bahwa biodegradasi hidrokarbon berlangsung dengan melibatkan kombinasi 3 aspek keilmuan yang saling bersilangan. Berikut ini merupakan mekanisme reaksi degradasi aerob komponen hidrokarbon alifatik/alkana oleh suatu mikroba menggunakan enzim alkana dengan melibatkan enzim monooksigenase untuk merubah hidrokarbon menjadi produk alkohol, ditunjukkan dalam skema reaksi Gambar 7.22, sebagai berikut:

Gambar 7.22 Mekanisme reaksi degradasi aerob komponen hidrokarbon alifatik/alkana oleh suatu mikroba menggunakan enzim alkana dengan melibatkan enzim monooksigenase

Alur biodegradasi hidrokarbon sebagai substrak oleh bakteri simbiosis/sel biomassa spons yang bertindak sebagai biomaterial untuk mendegradasi komponen hidrokarbon yang terdapat dalam limbah SMB, ditunjukkan dalam Gambar 7.23, berikut:

Gambar 7.23 Alur degradasi bakteri simbion/sel biomassa spons terhadap komponen hidrokarbon dalam limbah SMB

Alur degradasi limbah SMB diawali oleh spons mengandung pellet bakteri (permukaan) dan juga dapat bersimbion dengan bakteri (indigen). Kedua komponen tersebut dapat menghasilkan enzim tertentu jika kondisi lingkungan pertumbuhannya tercapai untuk membelah diri. Enzim yang diproduksi berukuran sangat kecil, dan dapat masuk dalam celah/pori limbah SMB dan melepaskan gugus hidroksil (-OH), sehingga terjadi reaksi oksidasi menghasilkan alkohol, selanjutnya aldehid dan reaksi oksidasi lebih lanjut menghasilkan asam karboksilat. Produk asam karboksilat terpotong-potong menghasilkan gas CO₂ dan produk energi setelah mengalami reaksi enzimatik secara simultan dalam siklus β-oksidasi.

Perbedaan mendasar antara mikrosimbion spons dan biomassa spons, meskipun yang dicontohkan dalam tulisan ini merupakan aplikasi dari 2 jenis biomaterial yang berasal dari jenis spons yang sama, yakni *Callyspongia sp.* Bakteri simbion spons memiliki makna yang sama dengan mikrosimbion spons, yakni bahwa bakteri simbion spons adalah bakteri hasil isolasi berupa isolat dari spons yang selanjutnya dimurnikan untuk mendapatkan isolat tunggal, dimana isolat tunggal tersebut dikultur

untuk perbanyakkan sel hingga siap diaplikasikan dalam metode biodegradasi terhadap substrak atau komponen hidrokarbon. Isolasi bakteri dari spons dilakukan dengan memili bagian dari sayatan *mesohyl* spons yang di preparasi hingga diperoleh isolat tunggal. Biomassa spons adalah hasil ekstraksi bagian dagin spons yang sebelumnya di bersihkan hingga bebas dari semua jenis komponen non spons, dimana dagin spons ini diblender untuk mendapatkan slurry. Dalam slurry inilah diperkirakan terdapat sejumlah bakteri meskipun dalam jumlah sel yang sedikit.

BAB 8 BIODEGRADASI KOMPONEN POLISIKLIK AROMATIK HIDROKARBON

8.1 Biodegradasi Polisiklik Aromatik

Biodegradasi berkaitan dengan proses yang terjadi pada lingkungan. Kata biodegradasi merupakan turunan dari kata degradasi yang diartikan sebagai suatu proses yang terjadi dimana kondisi lingkungan biofisik berubah akibat karena adanya aktivitas manusia terhadap suatu area/lahan dan akibat dari proses tersebut menimbulkan masalah baru terhadap menurunnya daya dukung lingkungan yang tidak diharapkan. Faktor penyebab terjadinya degradasi yang menyebabkan turunnya kualitas lingkungan, yakni: *pertama*, penyebab yang bersifat tidak langsung dan dominan penyebab kerusakan lingkungan, misalnya karena masalah pertambahan penduduk, kebijakan pemerintah yang kurang tepat dalam mengelola hutan dan lingkungan, dampak kemajuan industri, reboisasi, reklamasi, masalah penduduk miskin pedesaan, dan *kedua*, penyebab langsung yang disebabkan oleh aktivitas pendidik setempat yang terpaksa mengeksploitasi hutan/lingkungan akibat desakan kebutuhan hidup.

Kata aromatik ditinjau dari aspek ilmu kimia dipadankan dan dipahami sebagai senyawa yang disusun atas atom-atom karbon dan atom hidrogen dengan susunan sedemikian rupa dalam perbandingan tetap, unik, dan kompak atau stabil serta menghasilkan produk fisik yang memiliki aroma atau keharuman spesifik. Hidrokarbon aromatik atau disebut juga *arena*, kadang disebut hidrokarbon *aril* adalah hidrokarbon dengan ikatan ganda berselang seling ikatan tunggal dan atau ikatan ganda yang diapit oleh ikatan tunggal diantara atom-atom karbonnya, di mana jenis ikatan yang membentuk ganda adalah terdiri atas susunan satu ikatan sigma dan 1 (satu) ikatan π (*phi*). Benzena adalah salah satu contoh senyawa aromatik sederhana dengan konfigurasi 6 atom karbon. Hidrokarbon aromatik dapat berupa senyawa atau molekul dipahami sebagai senyawa aromatik turunan benzena dengan struktur sederhana *monosiklik* dan struktur rumit *polisiklik*, namun juga dikenal beberapa

senyawa aromatik yang bukan merupakan turunan benzena disebut heteroarena yang kebanyakan dalam bentuk aromatik heterosiklik. Senyawa aromatik memiliki ciri dan struktur khusus untuk membedakan senyawa yang relatif sama namun bukan merupakan senyawa aromatik. Syarat suatu senyawa hidrokarbon dikatakan senyawa aromatik apabila memenuhi aturan Huckel, yaitu jumlah elektron π (ϕ) sebanyak $4n - 2$ membentuk awan orbital-P terdelokalisasi, tersusun atas molekul siklik, planar dan setiap atom dalam cincin harus berperan dalam delokalisasi elektron dengan memiliki orbital-P atau lebih dikenal dengan pasangan elektron bebas. Senyawa aromatik umumnya memiliki minimal satu atom karbon yang diganti oleh atom lainnya, misalnya atom nitrogen, oksigen atau sulfur namun jarang terjadi dan sangat sedikit ditemukan di alam. Furan adalah salah satu contoh senyawa aromatik yang merupakan senyawa cincin heterosiklik dengan 4 (empat) anggota atom karbon lainnya, contoh lainnya adalah piridina adalah senyawa heterosiklik cincin dengan 6 anggota, salah satu atom anggotanya adalah atom nitrogen.

Hidrokarbon aromatik polisiklik (PAH) adalah kelompok besar senyawa organik yang mengandung dua atau lebih cincin aromatik yang menyatu dalam satu struktur. Kemunculan PAH yang tersebar luas disebabkan oleh terbentuknya turunannya dari pembakaran pirolisis berbagai bahan organik yang tidak lengkap, seperti batubara, minyak, minyak bumi, dan kayu. PAH menunjukkan variasi paling kompak dalam struktural di alam, dibandingkan dengan kelas lain dari molekul non-halogenasi di biosfer. PAH di lingkungan termasuk senyawa volatil yang terbentuk karena fotooksidasi, adsorpsi oksidasi kimia pada partikel tanah, dan dari pencucian. Senyawa PAH sulit terdegradasi dalam matriks alami dan semakin sulit terurai seiring dengan meningkatnya berat molekul yang membentuk komponennya. Sifat PAH yang sangat toksik, mutagenik, dan karsinogenik, maka EPA AS mencantumkan 16 PAH sebagai polutan prioritas yang paling sering ditemukan sebagai produk ikutan dari suatu proses industri.

Senyawa umumnya bersifat PAH merupakan senyawa bersifat toksik terhadap lingkungan, bahkan memiliki kemampuan sebagai senyawa karsinogenik dan atau senyawa mutagenik, sehingga kebanyakan dari senyawa PAH digolongkan dalam senyawa kimia kategori Bahan

Berbahaya dan Beracun (B3). Mengapa PAH sangat beracun dengan toksisitas tinggi, hal ini disebabkan karena PAH sifatnya hidrofobik dan tidak memiliki gugus metil atau gugus reaktif lainnya untuk dapat berubah baik dengan proses alamiah maupun dalam proses reaksi kimia menjadi senyawa yang relatif lebih polar, akibatnya senyawa PAH sangat sulit diekskresi atau didestruksi, baik jika terjadi dari dalam tubuh maupun jika terpapar pada suatu area/lingkungan oleh organisme tertentu.

8.2 Jenis-Jenis Senyawa Polisiklik Aromatik Hidrokarbon

Berdasarkan strukturnya, Keberadaan senyawa PAH di alam dalam variasi yang sangat beragam. Diperkirakan jenis PAH yang ada di alam, mencapai ratusan jenis dengan susunan struktur yang berbeda. Bentuk senyawa PAH di alam dapat terdiri atas beberapa rantai siklik aromatik dan bersifat hidrofobik dan beberapa jenis diantaranya bersifat karsinogenik atau memiliki sifat mengaktifkan sel-sel kanker, juga diketahui bahwa senyawa ini dapat menyebabkan tumor, dan juga bersifat mutagenik atau menyebabkan termutasinya gen tubuh membentuk kanker. Hidrokarbon karsinogenik dapat ditemukan pada “tar” batu bara, bahkan potensial dijumpai pada jelaga dan asap tembakau dan dapat terbentuk dalam daging. Cara mengatasi karsinogen PAH sebagai penyebab kanker dengan mengeliminasi hidrokarbon, lalu tubuh mengoksidasinya agar lebih larut dalam air, sehingga lebih mudah diekskresikan dan dikeluarkan oleh tubuh. salah satu PAH karsinogen yang paling kuat benzo [a] pirena. Benzena salah satu senyawa yang dikategorikan golongan PAH jenis monosiklik, memiliki sifat sangat beracun (toksik) bagi manusia dan dapat menyebabkan kerusakan hati yang parah, tetapi toluena yang merupakan turunan dari benzena, justru memiliki sifat kurang berbahaya karena sifat racunnya lebih rendah dibanding yang lain. Beberapa contoh senyawa PAH yang kategori sangat beracun sesuai dengan rekomendasi dalam ASTM standar Amerika yang sering dijumpai di lingkungan sebagai bagian dari produk samping industri dan terdiri atas 16 jenis, diantaranya: Naptalena, Asenaptalena, Asenaptena, Fluorena, Phenantrena, Fluorantena, Pirena, Benzo[a]antrasena, Chrisena, Benzo[b] fluorantena, Benzo[k]fluorantena, Benzo[a]pirena, Dibenzo[a,h] antrasena, Benzo[g,h,i]perilena. Ke-16 jenis PAH ini yang

direkomendasikan karena paling sering ditemukan dalam lingkungan, dimana PAH ini diurut sesuai dengan daya racunnya atau tingkat toksisitasnya terhadap makhluk hidup yang ada di alam.

Sumber pencemaran PAH dapat dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu: *pertama*, Sumber tetap, misalnya bareal dari industri, buangan dari pembangkit listrik dan panas, pembakaran terbuka, insenerasi sampah, asap dari kebakaran hutan, penambangan terbuka, aspal petroleum, beberapa pelarut komersial, produk industri seperti beberapa jenis racun serangga dan contoh-contoh lainnya; *kedua*, Sumber bergerak, misalnya kendaraan bermotor, transportasi pengangkutan minyak (kendaraan darat, laut seperti kapal tanker), batu bara, dan lain sebagainya. Meskipun demikian ternyata PAH juga berpotensi terkontaminasi dalam lingkungan dari sumber alami kebakaran hutan dan lahan, rembesan minyak, letusan gunung berapi serta eksudat dari pohon. PAH sifatnya hidropobik, artinya PAH lebih mudah tercampur dengan minyak daripada pada tanah sehingga PAH di lingkungan biasanya ditemukan di substansi berminyak, endapan (sedimen), dan terakumulasi di tanah. Salah satu sumber kontaminasi PAH terbesar di tanah adalah dari aktivitas penambangan batubara, pengolahan batubara, pembuangan limbah penambangan batubara, penimbunan batubara di *stockpile* serta tumpahan selama bongkar dan muat batubara di pelabuhan dan kecelakaan transportasi pengangkutan batubara. PAH lebih banyak terkumpul pada partikel padatan, sedimen, dan dalam tanah.

PAH cenderung terakumulasi dalam jaringan lemak pada material yang tidak banyak mengandung air, namun juga sering ditemukan PAH dalam aliran air hujan dan sungai dan akhirnya PAH dapat bermuara ke laut. Potensi paparan PAH di laut sangat tinggi karena dapat berasal dari berbagai sumber, dan lingkungan laut merupakan area penampungan paling besar dan merupakan penampung terakhir dipastikan bermuara di laut yang berasal dari semua sumber PAH. Sumber PAH dalam air laut dan sedimen ini berasal dari berbagai sumber yakni pembakaran bahan organik, pembakaran minyak bumi, dan tumpahan minyak, sampah plastik dan lain-lain. Keberadaan PAH di dalam laut dapat menimbulkan masalah baru, karena pada laut terdapat berbagai macam biota laut, dimana pada biota ini dapat menjadi sumber pangan dan protein bagi manusia seperti pada ikan yang dalam siklus kehidupan dikenal dengan ekologi, biota-

biota ini juga sangat rentan terpapar PAH. Paparan PAH pada ikan, pada akhirnya mengancam kehidupan manusia, melalui jalur nelayan yang melakukan penangkapan ikan, akhirnya terbeli oleh masyarakat, kemudian diolah dan dikonsumsi, sehingga dipastikan pada manusia juga sangat rentan terpapar zat PAH.

Keberadaan tumbuhan mangrove, spons, moluska dan jenis biota lainnya yang bersimbiosis dengan mikroorganisme, diketahui dapat mereduksi sifat racun PAH secara alamiah melalui jalur biodegradasi, namun kiranya bahwa sangat sulit untuk memastikan bahwa ikan-ikan hasil tangkapan nelayan terbebas dari paparan PAH. Siklus sebaran PAH dalam laut dapat mengglobal dan menjadi ancaman serius terhadap kesehatan manusia, sehingga menjadi tanggungjawab bersama, bagaimana mengurangi atau meminimalkan sumber-sumber dan volume buangan serta jenis PAH yang dapat masuk dalam tanah, laut dan juga terpapar pada tumbuhan dan hewan termasuk manusia, sehingga diharapkan kemampuan alamiah laut dalam mendegradasi polutan PAH oleh kerja mangrove dan spons tetap dapat berjalan dalam keseimbangan yang rasional, artinya volume kontaminan PAH yang masuk ke laut diyakini dapat terdegradasi seluruhnya oleh kerja alamiah biomaterial laut ini. Kekhawatiran ini pula yang melatarbelakangi adanya upaya-upaya remediasi lingkungan oleh manusia sebagai bagian dari pemulihan lingkungan khususnya laut melalui metode biodegradasi polutan khususnya PAH.

Secara prinsip teknik biodegradasi hidrokarbon alifatik oleh bakteri simbiosis spons sama dengan biodegradasi PAH menggunakan degradator bakteri. Perbedaannya hanya terletak pada material substrak yang akan didegradasi, pada biodegradasi hidrokarbon alifatik, materialnya adalah hidrokarbon jenis alifatik sedangkan biodegradasi PAH, di mana substraknya adalah polisiklik aromatik hidrokarbon. Diketahui bahwa substrak PAH memiliki daya toksisitas sangat tinggi dibandingkan dengan alifatik, sehingga dibutuhkan jenis bakteri tertentu yang memiliki daya degradasi tinggi terhadap PAH. Artinya bahwa jenis bakteri yang dapat mendegradasi hidrokarbon alkana belum tentu dapat mendegradasi PAH. Mensiasati masalah ini, maka metode yang dapat diterapkan adalah penggunaan bersama-sama bakteri yang kita kenal

dengan konsorsium bakteri, termasuk bakteri yang dipilih adalah jenis bakteri karbonoklastik. Upaya berikutnya yang dapat ditempuh untuk meningkatkan daya degradasi terhadap PAH adalah melakukan modifikasi dan teknik degradasi baik pada reaktor yang digunakan maupun faktor internal dan eksternal yang berpengaruh dalam meningkatkan tingkat biodegradasi terhadap PAH. Pencemaran PAH pada laut juga sangat potensial terjadi pada tanah.

8.3 Determinansi Polutan Polisiklik Aromatik Hidrokarbon dalam Tanah

Pencemaran tanah oleh PAH juga merupakan masalah penting yang belum dapat diselesaikan dengan tuntas hingga saat ini. Permasalahan tersebut muncul karena tingginya aktivitas manusia yang menghasilkan sumber-sumber kontaminan PAH dalam volume besar, misalnya dari kegiatan penambangan batubara khususnya di Indonesia, terkhusus pada wilayah Kalimantan dan Sumatera. Pencemaran tanah oleh PAH bukan hanya dihasilkan dari proses penambangan, pengolahan, pengangkutan, dan pembuangan limbah batubara, tetapi dari berbagai kegiatan. Pencemaran ini dapat menyebabkan kerusakan tanah dan pencemaran lingkungan pada tataran yang lebih luas, sehingga menimbulkan efek serius yang tidak diinginkan. Sifat fisik dan kimia tanah yang tercemar PAH, selanjutnya mengalami perubahan kualitas dan daya dukung dalam ekosistem lingkungan, salah satunya mengakibatkan penurunan aktivitas dan populasi organisme yang hidup dalam tanah, akibat pencemaran PAH dipastikan mempengaruhi kesuburan tanah secara langsung atau tidak langsung, dan lebih serius jika genetic dari organisme tanah dan tanaman bermutasi untuk tujuan menyesuaikan diri dengan karakter kontaminan yang ada agar tetap dapat hidup, sehingga berakibat pada potensi timbulnya penyakit varian baru.

Investigasi paparan PAH di tanah dan laut, biasanya dilakukan dengan analisis menggunakan instrument GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectroscopy*), atau kromatografi cair dengan sinar tampak (*ultraviolet*) atau metode spektroskopik floresens serta metode cepat dengan PAH indikator. Umumnya dilakukan analisis dengan ekstraksi dan purifikasi untuk mengetahui kandungan PAH pada sampel uji. Biodegradasi PAH dapat terjadi dalam proses alami oleh mikroorganisme

tanah dan material pada laut yang mampu menggunakan hidrokarbon sebagai sumber makanan dan mengubahnya menjadi produk energi dan menghasilkan karbondioksida, air, biomassa, dan senyawa oksidasi organik lain dari hasil metabolismenya. Proses biodegradasi merupakan salah satu oksidasi dasar, dimana enzim bakteri mengkatalisis oksigen dalam hidrokarbon dengan cara penyisipan, sehingga molekul dapat digunakan dalam metabolisme seluler. Beberapa molekul organik didegradasi secara sempurna menjadi CO_2 dan H_2O dan produk senyawa organik sederhana lainnya, sedangkan senyawa lain, diubah dan digabungkan menjadi biomassa. Keberhasilan proses biodegradasi banyak ditentukan oleh aktivitas enzim yang diproduksi oleh mikroba atau bakteri yang terlibat dalam biodegradasi. Penelusuran mikroorganisme yang berpotensi menghasilkan enzim pendegradasi hidrokarbon (PAH), merupakan upaya positif dan perlu didorong secara lebih masif lagi, kemudian aktivitasnya dioptimalkan dengan pengaturan kondisi dan penambahan suplemen yang sesuai untuk meningkatkan tingkat degradasi.

Proses biodegradasi PAH oleh mikroorganisme melibatkan enzim dioxygenase dan dihydrogenase untuk melakukan kerja pemutusan rantai oksigen dan hidrogen, dimana produk bioemulsifier yang dihasilkan oleh mikroorganisme juga berperan dalam meningkatkan kelarutan dari senyawa PAH dalam medium degradasi, sehingga memudahkan penguraiannya. Alur bioegradasi PAH oleh mikroorganisme khususnya bakteri lebih khusus bakteri yang digunakan adalah bakteri hasil isolasi dan kultur dari spons laut yang selanjutnya diberi nama mikrosimbion spons. Mikrosimbion ini akan mengoksidasi PAH melalui pemecahan cincin dan melakukan asimilasi pecahan cincin karbon, sedangkan proses detoksifikasi PAH dimulai dengan hidroksilasi filamen oleh jamur. Dalam hal ini perlu diperhatikan faktor-faktor yang mempengaruhi kinerja mikroorganisme seperti kandungan air, pH, suhu, nutrisi yang tersedia, penambahan surfaktan, dan atau tidak adanya material toksik lainnya yang menambah kontaminasi dan toksisitas PAH. mikrosimbion mesofilik (pertumbuhan optimum pada suhu 20°C - 40°C) memiliki efisiensi degradasi lebih tinggi dibandingkan bakteri yang hidup pada suhu lebih dingin (psikrofilik) atau lebih panas (termofilik). Jenis polutan organik yang dapat dibiodegradasi adalah BTEX, minyak bumi, PAH, PCB,

senyawa nitroaromatik, phenol berklor, senyawa alifatik terklorinasi, dan metal. Limbah tar batubara yang mengandung PAH, semuanya dapat didegradasi oleh mikroba menjadi senyawa organik sederhana. Namun demikian, selalu terdapat senyawa-senyawa yang tidak dapat dibiodegradasi oleh mikroba, atau dengan kata lain adanya faktor pembatas kinerja mikrosimbion/bakteri dalam proses biodegradasi, sehingga polutan dari substrak tidak seluruhnya dapat didegradasi secara total. Sekumpulan mikroba tertentu mendegradasi komponen PAH secara berurutan, berantai dan simultan oleh populasi bakteri yang hidup dan berkembang sesuai dengan keberadaan substrat yang tersedia dan mampu didegradasinya. Pengolahan dan penanganan PAH dari berbagai sumber mengikuti regulasi Uni Eropa dan US-EPA tentang ambang batas maksimum senyawa PAH di lingkungan, khususnya didalam tanah. Nilai baku mutu lingkungan untuk kontaminasi konsentrasi PAH dalam tanah pertanian oleh Uni Eropa ditetapkan maksimal 5 mg/kg, dan untuk tanah dengan fungsi fasilitas umum maksimal 100 mg/kg. Beberapa negara Eropa seperti Inggris justru menetapkan nilai ambang batas PAH yang lebih ketat, yakni konsentrasi PAH ditanah sebesar 500 mg/kg untuk taman rekreasi dan maksimal 10.000 mg/kg untuk lahan yang memiliki pelapis keras berupa semen atau aspal.

8.4 Aplikasi Mikrosimbion Spons dalam Metode Biodegradasi PAH

Berikut ini, contoh dari aplikasi mikrosimbion spons laut dalam biodegradasi PAH yang dilakukan dalam beberapa tahap, yakni:

1. Menyiapkan sampel beberapa jenis spons laut dengan memilih jenis spons laut yang permukaan tubuhnya tertutup oleh lendir atau lumpur sebagai tanda bahwa spons tersebut telah mengalami dinamika dalam melawan predator polutan hidrokarbon yang masuk pada habitatnya.
2. Spons terpilih dianalisis morfologi. Hasil analisis morfologi ditemukan bahwa jenis spons yang dipilih, misalnya jenis dan spesies *Callyspongia* sp, famili *Callyspongiidae* dengan ciri-ciri: pertumbuhan bercabangan, permukaan tubuhnya berwarna gelap, terkompresi di dalam air, konsistensi rapuh saat mengering. Spons terpilih diisolasi bakteri yang bersimbiosis di dalam struktur tubuhnya;

3. Dilakukan pewarnaan Gram isolat, diperoleh golongan Gram bakteri simbion spons jenis bakteri golongan Gram Positif, atau Gram negatif;
4. Dilakukan analisis morfologi isolat simbion spons dan diketahui bahwa jenis isolat tersebut, misalnya: berbentuk bulat dan sebagian kecil batang memanjang, memiliki endospora, berkoloni, koloni berukuran kecil, bentuk bulat, elevasi berupa convex dan pinggiran koloni halus mengkilap;
5. Isolat simbion spons selanjutnya dikultur untuk perbanyakkan sel dan dibuat suspensi menggunakan larutan fisiologis NaCl 0,9 %.
6. Suspensi isolat diuji pendahuluan pada media yang telah diberi kontaminan PAH, misalnya (naftalena dan Antrasena) dengan konsentrasi masing-masing PAH 100 ppm (tentatif), dilakukan inkubasi 2x24 jam, diamati pertumbuhan setiap isolat simbion spons, misalnya diperoleh hasil: isolat uji memiliki aktifitas pertumbuhan pada media PAH;
7. Isolat simbion spons selanjutnya dianalisis fenotip (uji biokimia) menggunakan 15 macam media reaksi dan reagent biokimia. Hasil ini yang mungkin, misalnya: adanya pola dan karakter isolat mikrosimbion spons laut, yakni: bereaksi positif dengan beberapa reagent biokimia diantaranya: (1) Methil Merah: reaksi positif dengan reagen MR, menunjukkan bahwa isolat simbion ini memiliki kemampuan untuk menginduksi glukosa menghasilkan produk asam yang stabil menyebabkan pH media degradasi turun; (2) Voges-Proskauer: reaksi dengan VP, menunjukkan bahwa produk fermentasi isolat simbion salah satunya berupa aseton; (3) Laktosa: bereaksi dengan laktosa, menunjukkan bahwa isolat simbion, memiliki enzim laktase yang mampu mengubah laktosa menjadi galaktosa dan glukosa; (4) Katalase: reaksi positif pada uji katalase oleh isolat simbion, menunjukkan bahwa isolat tersebut golongan aerob yang dapat memproduksi enzim katalase dan mampu menggunakan H_2O_2 dalam reaksi dan (5) sitrat: positif terhadap reagen sitrat menunjukkan bahwa isolat ini dapat menggunakan produk fermentasi sebagai sumber karbon, meskipun tetap bereaksi dengan reagen biokimia lainnya;

8. Isolat simbiosis spons laut yang telah diuji pendahuluan, selanjutnya dilakukan analisis genotip. Hasil analisis genotip dengan metode Molekuler Amplifikasi DNA (Deoksiribosa Nukleat Acid) menggunakan instrumentasi Polymerase Chain Reaction (PCR). Hasil analisis genotip ini memperlihatkan pola jumlah pasangan basa nitrogen, misalnya: di atas 960 bp (*base pair*) DNA, dan diketahui dengan jenis bakteri adalah (contoh): *Bacillus subtilis* strain BAB-1684 dan *Bacillus flexus* strain PHCDB20;
9. Uji kinerja biodegradasi isolat terhadap tiga jenis PAH (Naftalena, Antrasena dan Pyrena) konsentrasi masing-masing 100 ppm, dilakukan dengan prosedur:
 - (1) Isolat dikultur,
 - (2) Dibuat suspensi dan kontrol positif yang telah diketahui mampu mendegradasi PAH adalah *Pseudomonas sp.*, yang diperoleh.
 - (3) Masing-masing 5 mL dimasukkan dalam pial untuk pengamatan 6 waktu setiap jenis suspensi mikrosimbiosis spons (3 jenis) dan sebanyak 3 macam PAH yang berbeda, diberi label seri BS 1-6 (SB=*Bacillus subtilis*), BF 1-6 (*Bacillus flexus*) dan KP 1-6 (Kontrol positif), sedangkan angka 1-6 untuk setiap pial. Masa interaksi dalam hari, yakni 5, 10, 15, 20, 25, 30 hari waktu kontak. Jumlah pengamatan adalah 6 kali dilakukan setiap 5 hari dan kelipatannya dengan parameter pengamatan biodegradasi;
 - (4) Pada reaktor, masing-masing ditambahkan 5 mL Naftalena konsentrasi 100 ppm, 6 reaktor berikutnya ditambahkan 5 mL Antrasena 100 ppm dan 6 reaktor berikutnya untuk 5 mL pyrena konsentrasi 100 ppm;
 - (5) Setiap reaktor disegel dengan aluminium foil dan di agitasi dengan Shaker pada kecepatan 45 rpm;
 - (6) Hari ke lima kontak dan kelipatannya dilakukan pengamatan sesuai parameter biodegradasi yang telah ditentukan;
 - (7) Pengamatan dilakukan untuk 5 parameter biodegradasi untuk mengetahui apakah terjadi biodegradasi PAH oleh kerja isolat hasil kultur dari spons laut.

Pengamatan parameter biodegradasi dilakukan setiap dicapai 5 hari kontak dan kelipatannya, dengan parameter yang diamati adalah:

- (1) Kekeruhan/diukur kerapatan optik menggunakan spektrometri 20D⁺;
- (2) Pembentukan gelembung udara/gas dengan pengamatan visual;
- (3) Pengamatan pembentukan bau fermentasi dengan indra penciuman;
- (4) Pengamatan perubahan pH menggunakan kertas pH universal; dan
- (5) Pengukuran PAH sisa biodegradasi menggunakan GC-MS.

Catatan: selama masa interaksi berlangsung dilakukan 2 (dua) kali penambahan nutrient NPK merk [Norsk Hydro A.S. Norwegia] konsentrasi 1 % volume masing-masing yang ditambahkan 0,5 mL. Penambahan nutrient dilakukan pada hari ke 8 dan hari ke 16 kontak, menggunakan spuit suntik. Semua tahapan dan proses yang dilakukan dalam biodegradasi ini dilakukan dalam keadaan steril dalam LAF.

10. Pengamatan parameter biodegradasi khusus untuk pengukuran PAH sisa biodegradasi dilakukan dengan terlebih dahulu diekstraksi menggunakan pelarut non polar yang sesuai, contoh dikloromethana, lalu diukur menggunakan GC-MS.
11. Analisis data serta perhitungan konsentrasi PAH setelah interaksi untuk mengetahui tingkat biodegradasi yang dicapai sebagai bentuk kinerja dari mikrosimbion spons laut.

Hasil analisis dari eksperimen yang dilakukan, disimpulkan bahwa dua jenis isolat hasil kultur dari spons *Callyspongia sp* dan kontrol positif KP dapat mendegradasi ketiga jenis PAH (Naftalena, Antrasena dan Pyrena) dengan performa berbeda dalam satuan persen (%) PAH terdegradasi. Urutan daya racun atau sifat toksisitas ketiga jenis PAH sebagai objek uji adalah pyrena > antrasena > naftalena. Sifat dan daya toksit PAH ini, berpengaruh pada performa isolat terhadap PAH tersebut, dimana degradasi yang berlangsung ditandai dengan hasil parameter biodegradasi yang diamati pada semua reaktor.

Hasil uji kinerja isolat simbiosis spons laut terhadap degradasi PAH diuraikan sebagai berikut: Performa Isolat hasil kultur bakteri *Bacillus subtilis* strain BAB-1684 mampu mendegradasi naftalena maksimal 64 % maksimal dicapai dalam masa kontak 20 hari, mampu mendegradasi antrasena hingga 54 % maksimal dicapai pada 25 hari masa kontak dan

mendegradasi pyrena hingga 32 % dicapai pada 25 hari masa kontak. Performa isolat uji keempat adalah isolat hasil kultur bakteri *Bacillus flexus* strain PHCDB20 mampu mendegradasi naftalena hingga 69 %, dicapai pada masa interaksi 20 hari, degradasi terhadap antrasena mencapai 44 % dengan masa interaksi 25 hari dan terhadap pyrena mampu mendegradasi hingga 25 % dicapai pada masa interaksi 25 hari sedangkan Performa biodegradasi *Pseudomonas sp.* sebagai bakteri kontrol positif terhadap PAH uji, dilaporkan mampu mendegradasi antrasena dengan kemampuan relatif sama dengan isolat uji *Bacillus subtilis* strain BAB-1684. Performa isolat simbiosis spons laut terhadap degradasi PAH (naftalena, Antrasena dan Pyrena) sebagaimana angka persentase di atas diperoleh dari selisih konsentrasin PAH awal (100 ppm) yang di interaksikan dengan konsentrasi PAH setelah kontak, di tentukan dari hasil pengukuran menggunakan GC-MS. Empat parameter biodegradasi lainnya (kerapatan optik, gelembung gas media, bau fermentasi dan pH) masing masing terpenuhi dengan intensitas rendah, sedang dan tinggi sesuai hasil pengamatan.

8.5 Aplikasi Mikrosimbiosis Spons Laut dalam Biodegradasi Sludge Minyak Bumi

Biodegradasi senyawa aromatik juga telah dilakukan dalam degradasi komponen hidrokarbon aromatik yang terkandung dalam *sludge* minyak bumi lainnya dengan memanfaatkan bakteri simbiosis spons laut. Hasil eksperimen memberi informasi terkait dengan kemampuan mikrosimbiosis spons laut dalam mendegradasi komponen hidrokarbon aromatik dalam limbah SMB, ditandai dengan penurunan konsentrasi komponen hidrokarbon aromatik dalam SMB setelah interaksi suspensi mikrosimbiosis spons laut terhadap SMB. Seperti halnya pada hidrokarbon alifatik, pada penggunaan mikrosimbiosis *Bacillus Subtilis* strain BAB-1684 dan *Bacillus Flexus* strain PHCDB20, meskipun diketahui bahwa mekanisme degradasi komponen aromatik lebih sulit dan rumit terdegradasi oleh suatu jenis mikroba dibandingkan komponen alifatik. Hal ini menunjukkan bahwa kedua jenis mikrosimbiosis spons *Callyspongia sp* lebih kuat dan tahan pada media toksik dibandingkan mikroba lainnya. Hasil pengukuran dengan GC-MS komponen aromatik dalam SMB asal PT. Caltex Pasific Indonesia, Dumai, Riau ditemukan

hanya ada dua jenis hidrokarbon aromatik, yakni: 2,7 Dimethyl Naphthalena ($C_{12}H_{12}$) dan Azulena ($C_{12}H_{12}$), keduanya memiliki rumus molekul yang sama namun berbeda dalam strukturnya. Tingkat biodegradasi komponen aromatik dalam limbah SMB, ditunjukkan dalam Gambar 8.1, berikut:

Gambar 8.1 Hubungan antara perubahan konsentrasi hidrokarbon aromatik penyusun limbah SMB dengan waktu kontak (hari) menggunakan degradator suspensi BS strain BAB-1684

Gambar 8.1 di atas menunjukkan bahwa mikrosimbion spons jenis *Bacillus Subtilis* strain BAB-1684, mampu berkinerja dalam mendegradasi komponen aromatik hidrokarbon 2,7 Dimethyl Naphthalena dan Azulena yang terdapat dalam *sludge* minyak bumi, meskipun tingkat penurunan konsentrasi kedua jenis hidrokarbon aromatik tersebut sangat kecil.

Gambar 8.2 Hubungan antara penurunan konsentrasi hidrokarbon aromatik penyusun limbah SMB dengan waktu kontak (hari) menggunakan degradator suspensi BF strain PHCDB20

Gambar 8.2 di atas pada penggunaan bakteri simbion lainnya, yakni menggunakan bakteri *Bacillus Flexus* strain PHCDB20 yang merupakan bakteri simbion dari spons *Callyspongia* sp. Hasil biodegradasi menunjukkan bahwa bakteri ini juga dapat mendegradasi komponen hidrokarbon aromatik yang terdapat dalam limbah SMB. Penggunaan bakteri jenis ini memperlihatkan kemampuan degradasinya lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan *Bacillus subtilis*.

Gambar 8.3 Hubungan antara perubahan konsentrasi hidrokarbon aromatik penyusun limbah SMB dengan waktu kontak (hari) menggunakan degradator suspensi BSF campuran

Penggunaan gabungan dua jenis bakteri simbion spons yakni jenis BS strain BAB-1684 dan BF strain PHCDB20 perbandingan volume suspensi 1:1, menunjukkan kinerja degradasinya terhadap komponen hidrokarbon aromatik dalam SMB sedikit lebih kuat dibandingkan kinerja degradasi pada penggunaan BS strain BAB-1684 tunggal, namun tingkat degradasinya lebih rendah dibandingkan jika menggunakan BF strain PHCDB20 tunggal. Hal ini diduga terjadi kompetisi antara isolat dalam mendapatkan nutrisi NPK dan juga pada penggunaan oksigen antara kedua jenis bakteri simbion spons tersebut. Akibat dari kompetisi ini mengakibatkan sel-sel keduanya tidak mampu untuk tumbuh dan berkembang maksimal, bahkan dugaan sel-sel tersebut juga sulit untuk bertahan lama. Kondisi ini berakibat pada lemahnya sel tersebut dalam melakukan degradasi terhadap komponen hidrokarbon aromatik (2,7 Dimethyl Naphthalena dan Azulena) dalam *sludge* minyak bumi. Pada eksperimen ini dilakukan penambahan nutrisi NPK 1% dengan volume

0.5 mL yang dilakukan 2 (dua) kali penambahan yakni pada masa kontak 8 hari dan 16 hari.

Penggunaan biakan murni bakteri *Pseudomonas sp* yang fungsinya sebagai kontrol positif, ternyata tidak memperlihatkan kinerja degradasi terhadap komponen aromatik dalam SMB. Hal ini terlihat pada konsentrasi komponen hidrokarbon aromatik tidak mengalami penurunan, artinya bakteri ini tidak beraktivitas dalam limbah SMB. Komponen aromatik dalam SMB tidak terdegradasi pada penggunaan mikroba biakan murni *Pseudomonas sp* disebabkan oleh beberapa faktor, diantaranya:

- (1) Respon suatu jenis mikroba berbeda-beda terhadap komponen hidrokarbon;
- (2) Toksisitas ekstrim komponen aromatik menyebabkan sel mikroba tidak dapat bertahan hidup lebih lama dalam media degradasi;
- (3) Mekanisme degradasi komponen aromatik berbeda dan bahkan lebih rumit dibandingkan mekanisme degradasi komponen alifatik, akibat kemampuan komponen aromatik mengalami delokalisasi elektron π (*phi*) dalam cincin. Artinya bakteri sulit mendestruksi substrat tersebut karena kekompakan dan kestabilan struktur aromatik;
- (4) Sel bakteri mungkin mengalami kematian lebih awal akibat media degradasi menjadi asam akibat produk degradasi komponen alifatik yang terlebih dahulu terdegradasi sebelum komponen aromatik mengalami degradasi, dimana kedua jenis komponen ini menyatu dalam media degradasi;
- (5) Terjadi kompetisi degradasi komponen hidrokarbon yang didegradasi, dimana komponen aromatik lebih sulit mengalami degradasi dibandingkan komponen alifatik.

Berdasarkan hasil pengukuran GC-MS, teridentifikasi 2 jenis hidrokarbon aromatik dalam limbah SMB. Diketahui bahwa komponen hidrokarbon terbesar dalam minyak bumi adalah hidrokarbon alifatik yang mencapai 80 % dari seluruh komponen penyusun minyak bumi, dengan demikian dalam limbah sludge juga akan memiliki komponen yang sama. Keduanya terdegradasi setelah kontak selama 35 hari dengan suspensi BF strain PHCDB20. Konsentrasi komponen aromatik dalam limbah SMB setelah didegradasi dengan BF strain PHCDB20 berdasarkan perlakuan, ditunjukkan dalam Gambar 8.4, berikut:

Gambar 8.4 Hubungan antara konsentrasi hidrokarbon aromatik penyusun limbah SMB dengan perlakuan hasil degradasi suspensi BF strain PHCDB20

Gambar 8.4, memperlihatkan tingkat penurunan konsentrasi hidrokarbon aromatik (2,7-dimethyl naphthalena dan 1,4-dimethyl azulena) paling tinggi untuk perlakuan 1 dibandingkan perlakuan 2, 3 dan 4. Artinya kinerja bakteri simbiosis dalam mendegradasi komponen aromatik perlakuan 1 (ada penambahan nutrisi NPK dan suplai oksigen) paling tinggi, meskipun demikian kinerja bakteri perlakuan 2, 3 dan 4 juga menunjukkan kemampuan degradasi terhadap komponen aromatik ditandai dengan penurunan konsentrasi komponen aromatik, namun range penurunannya lebih sempit. Hal ini menunjukkan bahwa ada pengaruh pemberian nutrisi NPK dan suplai oksigen dalam mendegradasi komponen aromatik limbah SMB, dimana kecukupan nutrisi (NPK) mengakibatkan ukuran sel bakteri meningkat dan jumlah koloni bertambah akibat terjadinya pembelahan, dengan ketersediaan O_2 dalam media degradasi mengakibatkan aktifnya enzim yang dihasilkan oleh bakteri, sehingga memungkinkan terjadi reaksi oksigenase terhadap komponen hidrokarbon alifatik maupun aromatik (substrat) limbah SMB.

Kinerja ketiga jenis bakteri (BF, BSF, dan BS) simbiosis spons *Callyspongia sp* mendegradasi komponen aromatik mencapai keadaan optimum pada masa kontak 20-25 hari, yaitu waktu kontak dimana bakteri tersebut berada pada fase logaritmik (ukuran sel bakteri meningkat dan jumlah koloni bertambah), sehingga pada waktu kontak tersebut penurunan konsentrasi komponen aromatik maksimum. Range penurunan konsentrasi komponen alifatik lebih lebar dibandingkan penurunan konsentrasi komponen aromatik, hal ini disebabkan karena degradasi komponen aromatik oleh bakteri spons lebih sulit dibandingkan degradasi

komponen alifatik, sehingga membutuhkan waktu lebih lama untuk terjadinya perombakan. Kinerja bakteri simbiosis mendegradasi komponen aromatik semakin menurun akibat sifat toksik dan daya racun komponen aromatik sangat kuat, untuk itu kinerja bakteri simbiosis spons harus diperkuat dengan memberikan nutrisi yang cukup dan suplai oksigen dalam media degradasi agar bakteri tersebut tetap dapat bekerja maksimal, sehingga bakteri simbiosis dalam media degradasi dapat bertahan hidup lebih lama, termasuk mempertahankan pH media degradasi pada nilai netral. Data angka dilihat pada Lampiran 7, halaman 252.

Mekanisme degradasi hidrokarbon alifatik jenuh oleh mikroorganisme berbeda dengan mekanisme degradasi hidrokarbon aromatik. Proses degradasi hidrokarbon alifatik meliputi oksidasi molekuler (O_2) sebagai sumber reaktan dan penggabungan satu atom oksigen ke dalam hidrokarbon teroksidasi, sedangkan pada hidrokarbon aromatik diawali dengan pemecahan cincin dengan masuknya molekul OH, sedangkan mekanisme reaksi komponen aromatik, misalnya 2,7-dimetil naphthalena dan 1,4-dimetil azulena, (komponen aromatik dalam limbah SMB yang teridentifikasi oleh GC-MS), dapat mengalami reaksi oksidasi menghasilkan alkohol, kemudian terjadi pemecahan satu cincin benzena setelah terikat 2 gugus hidroksil ($-OH$). Jika terjadi reaksi oksidasi lebih lanjut, menghasilkan asam benzoat yang mengakibatkan pH media degradasi turun atau menjadi asam, dapat berakibat matinya bakteri dalam media sehingga proses degradasi komponen hidrokarbon terhenti, keadaan ini disebut faktor pembatas degradasi hidrokarbon oleh bakteri.

Gambar 8.5 Hasil identifikasi komponen aromatik dalam limbah SMB

Sesuai Gambar 8.5 di atas, tampak bahwa azulena berisomer dengan naphthalena. Molekul tersebut dapat mengalami reaksi oksidasi membentuk kotekol, namun kearomatikan masih dipertahankan, sehingga sifat toksisitas kedua senyawa tersebut tetap ada, meskipun sudah lemah.

Hal ini diperkuat hasil identifikasi dengan GC-MS, teridentifikasi senyawa organik berupa asam benzoat, benzaldehid, benzonitril dan fenol, diduga merupakan produk degradasi dari naphthalena dan azulena dalam limbah SMB, namun tidak dapat dipastikan karena tingkat kemiripan molekulnya hanya mencapai 56 % - 75 %, (produk biodegradasi substrak hidroakrbon aromatik oleh bakteri simbiosis spons dapat diperkuat dengan pengukuran dan analisis gugus fungsi yang terbentuk menggunakan instrumen FTIR). Senyawa tersebut teridentifikasi pada pengukuran hari ke 20 – 35, khususnya pada perlakuan 1 untuk degradasi menggunakan suspensi BS, BF dan suspensi BSF. Sebelumnya telah dilaporkan bahwa bakteri tidak mampu mendegradasi fenantrena secara total. Komposisi komponen aromatik, alifatik dan komponen lainnya yang terkandung dalam limbah SMB berubah setelah terdegradasi oleh mikroba, dapat dilihat dari hasil perhitungan persentase komponen terhadap persentase total ditunjukkan dalam Gambar 8.5, berikut:

Gambar 8.6 Hubungan total luas puncak komponen penyusun limbah SMB menggunakan degradator suspensi BF strain PHCDB20 setelah kontak 35 hari

Gambar 8.6, menunjukkan bahwa perlakuan 1, 2, 3 dan 4 dapat mendegradasi komponen alifatik, ditandai dengan penurunan luas puncak. Penurunan luas puncak terbesar ditunjukkan oleh perlakuan 1, sedangkan penurunan luas puncak untuk komponen aromatik hanya terjadi pada perlakuan 1, 2, dan 3. memperlihatkan peningkatan luas puncak untuk komponen lain. Data ini menunjukkan bahwa komponen alifatik terdegradasi lebih besar dibandingkan komponen aromatik. Peningkatan komponen lain dalam media degradasi diasumsikan sebagai komponen hasil degradasi. Komponen hasil degradasi oleh bakteri simbiosis berupa alkohol, aldehid dan asam karboksilat, misalnya senyawa oktanaldehid, 1-

oktanol, asam heksanoat. Untuk memberi informasi dan kepastian tentang komponen hasil degradasi dapat dilakukan dengan mengukur/identifikasi komponen hasil degradasi yang terlarut dalam media degradasi menggunakan FTIR. Hasil ini sesuai dengan hasil ulasan-ulasan tentang kinerja bakteri dalam biodegradasi hidrokarbon, sebelumnya menggunakan dasar perhitungan parameter perubahan luas puncak, dan perubahan kelimpahan komponen pada waktu retensi sama untuk komponen yang sama sebelum dan setelah proses degradasi.

BAB 9 APLIKASI MIKROSIMBION SPONS DALAM BIODEGRADASI PIRENA

9.1 Mikroorganisme dalam Biodegradasi

Hidrokarbon yang bercampur dengan minyak atau lemak adalah molekul yang mempunyai bagian hidrofilik dan hidrofobik yang mampu menurunkan tegangan antar muka air dan minyak. Pengaruh tidak langsung terjadi karena adanya Tarik menarik molekul atau kompetisi penggunaan nutrisi mineral dan oksigen antara akar tumbuhan dan mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon dan mendorong terbentuknya kondisi anaerobik sehingga dihasilkan senyawa fitotoksik seperti H_2S . Selain itu, minyak dengan sifatnya yang hidrofobik dapat menyebabkan struktur tanah menjadi buruk sehingga membatasi kemampuannya dalam menyerap air dan udara. Kontaminasi hidrokarbon minyak bumi di permukaan tanah menyebabkan terhambatnya perkembangan tumbuhan.

Pemahaman tentang kemampuan mikroba yang mampu mengkonsumsi semua jenis substrat dari alam untuk kepentingan metabolisme dan pertumbuhan, menjadi dasar munculnya metode dalam pemulihan lingkungan. Istilah yang ditawarkan dalam pemulihan lingkungan adalah bioremediasi. Bakteri, protista dan jamur diketahui sangat baik digunakan untuk merombak, mereduksi, mendestruksi atau lebih dikenal dengan mendegradasi molekul kompleks yang memiliki sifat racun terhadap lingkungan, dilakukan dengan memasukkan bahan tersebut ke dalam sistem metabolisme mikroba. Tingkat degradasi mikroba tergantung pada kemampuannya memproduksi zat berkarakter enzim. Contoh, minyak bumi mengandung komponen hidrokarbon alifatik maupun aromatik dapat didegradasi oleh kelompok mikroba karena kemampuannya menghasilkan zat enzim yang selektif terhadap minyak sebagai substrat..

Tingkat kemudahan hidrokarbon minyak bumi didegradasi oleh bakteri tergantung kepada jenis, struktur dan bobot molekulnya kontaminan PAH. Secara umum kemampuan biodegradasi naik dengan bertambah panjangnya rantai karbon. Selama proses biodegradasi,

Parafinikkomponen-komponen penyusun minyak bumi, seperti fraksi parafinik, naftenik dan aromatik mengalami perombakan ekstrim dan masif oleh kerja degradasi mikroba. Hidrokarbon dengan panjang rantai kurang dari 9 sulit didegradasi karena senyawa ini bersifat toksik meskipun beberapa bakteri tertentu (methanotrop) dapat mendegradasinya. Beberapa hasil percobaan menunjukkan bahwa: (a) hidrokarbon alifatik umumnya mudah didegradasi daripada aromatik karena kekompakan strukrur alifatik lebih rijid dibandik struktur aromatik, (b) hidrokarbon alifatik rantai lurus umumnya lebih mudah terdegradasi dibandingkan rantai cabang karena introduksi cabang ke molekul hidrokarbon menghambat proses biodegradasi dibandingkan aromatik, (c) hidrokarbon jenuh lebih mudah terdegradasi dibandingkan rantai tidak jenuh dan lebih sulit lagi jika dibandingkan dengan komponen aromatik, disebabkan karena adanya ikatan rangkap dua dan rangkap tiga antar karbon menghambat proses biodegradasi, dan (d) hidrokarbon alifatik rantai panjang cenderung lebih mudah didegradasi daripada rantai pendek dan lebih sulit lagi apabila dibandingkan komponen aromatik, akibat banyaknya simpul-simpul yang dapat diintruksi oleh mikroba, menyebabkan terputusnya rantai yang dapat terjadi pada banyak tempat disepanjang rantai karbon.

9.2 Aplikasi Mikrosimbion Spons dalam Metode Biodegradasi Pirena

Investigasi tentang perombakan PAH oleh mikroorganisme sudah banyak dikerjakan, namun menggunakan bakteri yang diisolasi dari spons laut untuk tujuan reduksi sifat racun PAH menjadi senyawa organik sederhana masih sedikit dilakukan. Mikroorganisme dan spons dikenal sebagai hewan kompleks yang memiliki berbagai fungsi termasuk kemampuan memproduksi senyawa bioaktif yang dapat berinteraksi dengan senyawa hidrokarbon sebagai sumber karbon.

Keberadaan hidrokarbon aromatik pada lingkungan menjadi perhatian banyak kalangan dan cukup beralasan karena sifat racun senyawa tersebut sangat tinggi, beresiko pada seluruh makhluk hidup. Sifat karsinogenik dan mutagenik beberapa golongan PAH khususnya struktur tiga cincin ke atas, mengancam terhadap kelangsungan hidup manusia. Penyakit yang dapat ditimbulkan oleh cemaran dan paparan senyawa aromatik hidrokarbon adalah kanker pada manusia. Cemaran

senyawa aromatik di lingkungan bebas tidak dapat dihindari, dapat berasal dari banyak sumber, misalnya: limbah aktivitas pengolahan minyak bumi, tumpahan minyak atau *ballas* cucian kapal tanker, kecelakaan transportasi kapal, kegiatan pertanian sebagai insektisida, aktivitas pada laboratorium kimia dan industri tertentu serta hasil alamiah reaksi kimia yang tidak disengaja juga berpotensi menghasilkan senyawa aromatik tertentu. Keberadaan senyawa aromatik pada lingkungan baik luas area cemaran maupun jumlah dan volumenya, cenderung tidak terkendali, mengakibatkan dampak negatif terhadap ekosistem lingkungan yang semakin tinggi dan resistensi terhadap kesehatan manusia cenderung naik akibat kemampuan senyawa aromatik mengalami siklus dan sulit diurai secara alami oleh mikroorganisme. Pengendalian dan penanggulangan cemaran senyawa aromatik terhadap lingkungan menjadi kebutuhan dan tidak dapat dihindari. Beberapa metode pengendalian cemaran senyawa aromatik telah dilakukan, seperti metode fisika, kimia dan biologi, namun kurang efisien dan efektif serta membutuhkan biaya mahal, sehingga diperlukan metode alternatif untuk dapat memecahkan masalah tersebut. Deaktivasi zat racun senyawa aromatik menggunakan bahan alam, misalnya penggunaan mikroorganisme sebagai biomaterial pendegradasi cemaran komponen aromatik adalah pilihan utama oleh para ahli dibidangnya. Beberapa bakteri baik indegenus maupun endogenus terbukti dapat mendegradasi komponen alifatik hidrokarbon dan beberapa komponen aromatik. Bakteri-bakteri tersebut misalnya *Bacillus sp*, *Bacillus macerans*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas sp.*, *Citrobacter sp.*, dan *paracoccus sp*.

Sumber bakteri yang sering digunakan sebagai biomaterial pendegradasi senyawa hidrokarbon dapat diisolasi dari berbagai sumber, seperti beberapa spesies mangrove, spesies spons, jenis jamur, area perairan terkontaminasi hidrokarbon, tanah tercemar hidrokarbon serta pada tempat penampungan limbah hidrokarbon. Metode degradasi menggunakan beberapa jenis bakteri diyakini lebih efektif dan efisien bahkan lebih murah dibandingkan metode lainnya, namun ditemukan sejumlah masalah dan kelemahan dalam aplikasinya yang sulit diprediksi, seperti: regenerasi bakteri, populasi bakteri yang digunakan, jenis bakteri, rasio dan konsentrasi ideal bakteri terhadap substrak (limbah

hidrokarbon), jalur dan mekanisme degradasi yang ditempuh oleh bakteri terhadap jenis komponen aromatik, konsentrasi limbah aromatik, jenis komponen aromatik, dan masih banyak lagi permasalahan lainnya, sehingga dibutuhkan berbagai metode aplikasi termasuk pemikiran penggunaan katalis untuk memecahkan masalah tersebut dan modifikasi-modifikasi yang dapat dilakukan khususnya pada reaktor atau lingkungan. Pengkajian lebih dalam tentang degradasi komponen polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) menggunakan mikroorganisme sangat luas, rumit dan kompleks, sehingga upaya-upaya yang dapat dilakukan dalam mengatasi hal tersebut adalah:

1. Perlu dilakukan skrining mikroba yang potensial multi fungsi dalam mendegradasi PAH sekaligus mampu mengabsorpsi logam berat;
2. Upaya konpresensif dalam penggunaan berbagai jenis dan sumber mikroba dalam biodegradasi untuk mendapatkan jenis-jenis bakteri pendegradasi PAH atau bakteri karbonoklastik;
3. Modifikasi penggunaan bersama-sama beberapa jenis bakteri/mikroba dalam degradasi yang kita kenal dengan konsorsium bakteri;
4. Upaya konkrit dalam membuat formulasi bakteri (bentuk kristal) yang dapat digunakan praktis dan mudah dikultur serta mudah di bawah ke lokasi tumpahan PAH untuk penanggulangan dampak cemaran yang lebih luas.

9.3 Material dan Metode Kerja Biodegradasi Pirena

Kebutuhan standar material untuk penerapan bakteri dalam metode biodegradasi PAH (pirena) ditentukan pada jenis PAH, volume, perkiraan konsentrasi yang akan didegradasi. Contoh material yang digunakan dalam mendegradasi Pirena pada eksperimen skala laboratorium adalah: Tiga jenis isolat bakteri, yaitu: *Alcaligenes faecalis* strain Cu4-1 (AF), dan *Bacillus Cereus* strain MER-8 (BC), adalah bakteri yang diisolasi dari air laut yang terkontaminasi hidrokarbon, sedangkan bakteri *Bacillus subtilis* strain BAB-1684 (BS) diisolasi dari spons *Callyspongia sp.* Untuk melakukan eksperimen biodegradasi yang diawali dengan isolasi bakteri dari sumbernya dibutuhkan peralatan dan bahan standar, misalnya larutan Salt Mineral Stone Solution (SMSS), Nutrien Agar (NA), Piren (sigma), Metanol pa, HCl, NaCl 0,9 % fisiologis, biakan murni bakteri *Pseudomonas sp.*, n-hexan pa, Na₂SO₄ anhidrat pa, iso-

oktana [CA540-84-1], diklorometan GR. Instrumen analisis yang digunakan adalah GC-MS [Agilent 7890], dengan kondisi operasi temperatur maksimum 350 °C, kenaikan temperatur dipertahankan 10 °C setiap 5 menit, tekanan 18.406 psi, gas pembawa Helium, dengan kecepatan alir 150 mL/min, kolom kapiler [Agilent 19019S-436HP-5 ms], dimensi 60 mx 250 µm x 0.25 µm, tekanan 18,406 psi, waktu retensi maks. 30 menit), spectronik 20 D* [Thermo E. Corp] pada panjang gelombang 600 nm, satu set sentrifugasi [DKC-1006T] 6 tabung, blender [Philips AE105], filter of 0.2 µm [millex-LH], Shaker incubator [Enviro-Genie], mikro pipet [Dragon Onemed], neraca analitik [Mettler PM-200], spoit skala 0,1 mL, Universal pH dan PCR.

Prosedur yang dijalankan untuk menghasilkan degradasi yang baik terhadap pirena dengan tahapan:

1. Pembuatan suspensi isolat dan penentuan jumlah sel koloni bakteri diawali dengan membuat suspensi isolat *Alcaligenes faecalis* strain Cu4-1 (AF). Memasukkan ± 2 mL larutan NaCl 0,9 % fisiologis ke dalam tabung reaksi yang berisi isolat AF, setelah semua koloni AF larut, diperoleh suspensi AF pekat, diencerkan perbandingan 1 mL suspensi dalam 500 mL NaCl 0,9 % fisiologis, dihomogenkan. Suspensi AF dikultur dalam cawan petri yang mengandung media Marine Agar (MA) dan diinkubasi selama 2 x 24 jam. Jumlah koloni AF dihitung menggunakan rumus: Rumus $N = \Sigma C / (V \times 1, 1 \times d)$. Prosedur yang sama untuk pembuatan suspensi dan penentuan jumlah sel terhadap isolat simbiosis BS dan BC.
2. Pembuatan larutan Pirena 100 mg/L sebagai substrak (Limbah) dilakukan dengan melarutkan 0.025 g piren dengan 25 mL diklorometan, diperoleh konsentrasi 1000 mg/L piren, lalu dipipet 10 mL ke dalam labu takar 100 diimpitkan dengan diklorometan diperoleh piren 100 mg/L
3. Biodegradasi Pirena menggunakan tiga jenis suspensi bakteri berdasarkan waktu kontak, dengan prosedur: Lima Erlenmeyer 50 mL, masing-masing diisi dengan media MA dan substrat piren 100 mg/L, perbandingan 1:1, dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*. Media disterilkan selama 15 menit, ditambahkan 5 mL isolat AF agar terjadi kontak dengan piren (proses degradasi), dan diinkubasi selama

24 jam pada suhu 37 °C, di shaker dengan kecepatan 150 rpm. Masing-masing media bakteri dipipet 10 mL kedalam media baru, dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu 37 °C. Pengamatan indikator degradasi dilakukan setiap 5 hari. Setiap sampel AF yang diperoleh di inkubasi selama 24 jam. Waktu kontak selama 25 hari .Metode yang sama dilakukan pada isolat BS dan BC.

4. Penentuan konsentrasi Piren sisa degradasi dilakukan dengan mengambil sampel AF sebanyak 5 mL, masing-masing ditambahkan 5 mL diklorometan, diekstraksi menggunakan *ultrasonik*. Diambil fasa organik, ditambah natrium sulfat anhidrat untuk menghilangkan kandungan air. Fase organik dipekatkan dengan gas nitrogen hingga volume akhir ± 5 mL, kemudian sisa pirena yang tidak terdegradasi dalam reaktor dianalisis menggunakan GC-MS. Cara yang sama juga dilakukan pada sampel BS dan BC.
5. Pengamatan parameter Analisis, sebagai acuan untuk menentukan apakah ketiga isolat bakteri yang digunakan dapat mengdegradasi pirena, yakni: (1) kerapatan optik, (2) pembentukan gelembung udara, bau fermentasi dan perubahan pH media degradasi, (3) waktu retensi terhadap kelimpahan pirena awal dan akhir interaksi, (4) konsentrasi pirena terhadap waktu kontak dan (5) identifikasi komponen hasil degradasi.

9.4 Indikator Penilaian Biodegradasi Pirena oleh Mikrosimbion Spons

Biodegradasi substrak (pirena) oleh mikroba simbion spons dapat dikatakan berjalan apabila dapat diamati beberapa indikator yang tampak secara fisik dalam media degradasi, misalnya media degradasi bertambah keruh sebagai wujud dari perubahan kerapatan optik, tercium bau fermentasi, dan adanya pembentukan gelembung udara. Selain perubahan fisik juga terdapat perubahan non fisik media degradator, namun dapat diketahui dengan melakukan pengukuran, diantaranya pengukuran perubahan pH media degradasi, penentuan konsentrasi pirena yang terdegradasi menggunakan instrument GC-MS dan penentuan komponen-komponen organik produk biodegradasi menggunakan FTIR. Perubahan-perubahan yang tampak pada media biodegradasi sebenarnya dapat diprediksi dari data fenotip (uji biokimia) mikrosimbion yang digunakan

sebagai biodegradator. Pengamatan indikator biodegradasi baik yang tampak secara fisik maupun non fisik diurai lebih rinci sebagai berikut:

9.4.1 Kerapatan Optik (DO)

Salah satu indikator proses biodegradasi substrak (pirena) oleh biodegradator isolat bakteri simbion spons dapat dilihat pada kerapatan optik media degradasi. Biodegradasi yang terjadi dipandang menempu mekanisme reaksi enzimatik. Senyawa aromatik (pirena) berposisi sebagai substrak atau material terdegradasi sedangkan isolat bakteri dalam hal ini mikrosimbion spons adalah mikroorganisme yang bertindak sebagai biodegradator, berfungsi memproduksi zat berkarakter enzim. Produksi zat ini harus dilakukan oleh bakteri untuk menjaga kelangsungan hidup bakteri ini yang terancam oleh toksisitas pirena. Nilai kerapatan optik naik atau turun pada waktu kontak tertentu menggambarkan situasi ancaman bakteri pada habitat dimana bakteri tersebut hidup sekaligus memberikan gambaran bahwa apakah bakteri tersebut mampu beradaptasi dalam media ekstrim terkontaminasi pirena. Kemampuan adaptasi bakteri dalam media menunjukkan bakteri ini dapat mengatasi sifat toksit pirena, sehingga bakteri tersebut dapat masuk dalam fase pertumbuhan (ukuran sel membesar dan jumlah sel bertambah banyak) sampai akhirnya bakteri tersebut mengalami masa stasioner dan akhirnya mati. Tabel 9.1 berikut, memperlihatkan adanya perubahan kerapatan optik media degradasi sebagai upaya bakteri dalam mempertahankan kelangsungan hidupnya dalam media ekstrim terkontaminasi pirena.

Tabel 9.1 Kerapatan Optik Media Degradasi Berdasarkan waktu Kontak

Sampel	Kerapatan optik berdasarkan waktu kontak (hari)					
	0 hari	5 hari	10 hari	15 hari	20 hari	25 hari
AF	0.043	0.671	0.772	0.469	0.386	0.303
BS	0.035	0.476	0.545	0.512	0.369	0.332
BC	0.037	0.778	0.814	0.567	0.295	0.210
Kontrol (-)	0.015	0.045	0.039	0.046	0.057	0.067

Profil nilai kerapatan optik hasil pengukuran menggunakan spektrofotometer, (Tabel 9.1), menunjukkan bahwa ada proses adaptasi bakteri yang terjadi dalam media degradasi. Komponen media degradasi

terdiri atas pirena, isolat bakteri dan media pertumbuhan. Konsentrasi pirena konstan 100 mg/L, media pertumbuhan tetap, sedangkan jenis isolat bakteri yang digunakan terdiri atas 3 (tiga) jenis dengan kode AF, BS dan BC yang digunakan secara terpisah sebagai kontak tunggal dalam media degradasi. Nilai kerapatan optik kultur meningkat mulai terjadi pada waktu kontak 5 hari sampai 10 hari pertama pada ketiga jenis isolat bakteri, namun pada kontak hari ke 15, hari ke 20 hingga hari ke 25, justru terjadi penurunan signifikan nilai kerapatan optik. Fluktuasi kerapatan optik media menunjukkan bahwa ketiga jenis isolat bakteri yang digunakan bekerja sedemikian rupa menyesuaikan diri dengan habitat agar dapat mempertahankan hidupnya, meski terlihat bahwa tingkat perubahan kerapatan optik berbeda-beda pada jenis isolat bakteri yang berbeda. Perbedaan perubahan nilai kerapatan optik menunjukkan performa jenis bakteri tersebut terhadap keberadaan senyawa toksik dari pirena yang mengancam kehidupan bakteri. Penurunan kerapatan optik setelah kontak hari ke 15 sampai hari 25, menunjukkan bahwa populasi sel bakteri mengalami kematian, karena tidak mampu bertahan hidup pada situasi lingkungan yang ekstrim. Beberapa dugaan penyebab matinya bakteri dalam media degradasi: (1) sifat asam media meningkat (pH turun) akibat adanya senyawa organik produk biodegradasi, (2) sifat toksik pirena yang menghambat proses pembelahan bakteri lebih lanjut, (3) kekurangan nutrisi meskipun dilakukan penambahan NPK, namun tidak dilakukan kontinyu, dan (4) kekurangan oksigen, walaupun ada agitasi reaktor dengan Shaker.

9.4.2 Pembentukan Gelembung udara, Bau fermentasi dan Perubahan pH Media Degradasi

Gelembung udara tampak pada semua media degradasi pada ketiga jenis bakteri yang digunakan (Bakteri AF, BS dan BC), di mana gelembung udara terlihat dengan jelas pada masa kontak 10 hari, meskipun gelembung udara yang terbentuk tidak sebanyak pada degradasi dengan substrak *sludge* minyak bumi. Hal ini terjadi karena substrak hanya satu macam yakni pirena, jauh berbeda ketika menggunakan *sludge* minyak bumi dengan jumlah komponen alifatik mencapai 20 jenis dan beberapa komponen aromatik serta komponen lainnya, sehingga pembentukan gelembung udara terbatas sesuai dengan substrak yang ada.

Bau fermentasi juga tercium tidak setajam ketika biodegradasi terhadap subtrak limbah *sludge* minyak bumi. Meskipun demikian bahwa bau fermentasi tercium tajam pada masa kontak 10 dan 15 hari, selanjutnya tercium lemah setelah masa kontak berlangsung 20 hari sampai 25 hari pada media degradasi. Bau fermentasi ini terdeteksi dalam media degradasi pada ketiga jenis bakteri uji yang digunakan dalam mendegradasi pirena.

Perubahan pH media degradasi juga terjadi pada ketiga jenis isolat yang digunakan dalam mendegradasi pirena. Nilai pH awal media degradasi pada 0 hari kontak adalah pH 7. Perubahan nilai pH 7 menjadi pH 6 terukur pada masa kontak 10 dan 15 hari. Penurunan pH ini menunjukkan bahwa telah terjadi proses biodegradasi pirena dan menghasilkan produk biodegradasi yang lebih asam menyebabkan keasaman media degradasi meningkat. Hal ini diduga sebagai salah satu penyebab kematiannya bakteri dalam media degradasi lebih awal. Faktor ini di sebut sebagai faktor pembatas biodegradasi.

Perubahan pH, pembentukan gelembung udara dan bau fermentasi pada media degradasi hidrokarbon khususnya pada degradasi komponen PAH merupakan indikator biodegradasi yang tampak paralel sebagai akibat atas kerja zat berkarakter enzim dalam reaksi enzimatik pada proses fermentasi atau biodegradasi substrak. Zat karakter enzim ini diproduksi oleh bakteri/mikroba sebagai material degradator terhadap substrak limbah hidrokarbon PAH dalam upaya bakteri tersebut untuk bertahan hidup dalam lingkungan ekstrim terkontaminasi pirena/PAH.

9.4.3 Waktu Retensi, kelimpahan dan pembentukan puncak baru

Mekanisme biodegradasi senyawa pirena menggunakan isolat bakteri AF, BS dan BC, setelah kontak 5 hari, 10 hari dan 15 hari dapat dilihat pada kromatogram. Tampak perubahan tinggi puncak dengan waktu retensi sama, menunjukkan adanya penurunan konsentrasi pirena dalam media degradasi, demikian pula adanya puncak baru yang terdeteksi memberi petunjuk adanya pembentukan senyawa organik hasil kerja isolat bakteri mendegradasi senyawa pirena. Kelimpahan pirena menurun seiring dengan pertambahan waktu kontak, menguatkan analisis bahwa konsentrasi pirena berkurang dibarengi dengan terbentuknya puncak baru yang merupakan adanya senyawa baru hasil kerja pada proses degradasi

degradator bakteri simbion. Proses ini terjadi pada tiga jenis isolat yang digunakan sebagaimana terlihat pada Gambar 9.1 berikut:

Gambar 9.1 Kromatogram senyawa organik dalam kultur menggunakan biodegradator *Alcaligenes faecalis* strain Cu4-1 (AF), waktu kontak, (A) 5 hari, (B) 10 hari, (C) 15 hari

Gambar 9.1, di atas adalah kromatogram atau puncak komponen pirena tanda (X) dan produk biodegradasi (puncak non X). Biodegradasi pirena oleh isolat AF diukur setelah kontak 5 hari (A), kontak 10 hari (B) dan kontak 15 hari (C). Pada gambar tersebut menunjukkan kelimpahan pirena menurun seiring dengan bertambahnya waktu kontak, mengindikasikan terjadi penurunan konsentrasi pirena. Pada kromatogram terlihat indikasi terjadi pembentukan senyawa baru ditandai dengan adanya puncak baru menunjukkan adanya senyawa organik baru akibat degradasi kerja isolat bakteri mereduksi senyawa pirena. Hasil kerja isolat AF mendegradasi pirena ditandai dengan terbentuknya 4 (empat) puncak baru nilai RF berbeda, merupakan puncak senyawa. Terlihat bahwa puncak-puncak baru yang terbentuk kelihatan menurun (bandingkan Gambar 9.1.A, B dan C) disebabkan senyawa yang terbentuk yang berada dalam reaktor degradasi menguap saat dilakukan ekstraksi, sehingga kelimpahannya berkurang. Sesuai teori, hasil biodegradasi adalah senyawa organik sederhana dan mudah menguap, seperti CO₂, CH₄, H₂O dan lainnya.

Gambar 9.2 Kromatogram senyawa organik dalam kultur menggunakan biodegradator *Bacillus subtilis* strain BAB-1684 (BS), waktu kontak, (A) 5 hari, (B) 10 hari, (C) 15 hari

Biodegradasi pirena oleh isolat BS, tidak jauh berbeda dengan proses biodegradasi AF diukur pada waktu kontak sama. Tampak 5 puncak baru pada kromatogram media. Puncak baru yang terbentuk menggambarkan ada 5 senyawa organik yang terbentuk hasil biodegradasi isolat BS terhadap senyawa pirena. Jenis senyawa baru dikuatkan dengan nilai waktu terensi berbeda. Tampak bahwa tinggi puncak kromatogram kelimpahan pirena menurun seiring dengan bertambahnya waktu kontak (bandingkan Gambar 9.1.A, B dan C), menandakan bahwa konsentrasi pirena berkurang akibat mengalami reduksi oleh kerja enzim yang diproduksi oleh bakteri sebagai degradator.

Penentuan jenis senyawa organik yang terbentuk berdasarkan data library/ID GC-MS dengan quality 95 persen disesuaikan dengan waktu retensi dan area puncak. Perbedaan jumlah puncak hasil biodegradasi pirena oleh AF dibandingkan dengan hasil biodegradasi BS, menunjukkan bahwa jalur dan mekanisme biodegradasi yang ditempu oleh setiap bakteri dalam mendegradasi substrak pirena berbeda antara bakteri yang satu dengan bakteri lainnya. Artinya bakteri memiliki mekanisme degradasi spesipik dan berbeda dengan mekanisme degradasi yang terjadi pada penggunaan bakteri jenis lain.

Gambar 9.3 Kromatogram senyawa organik dalam kultur menggunakan biodegradator *Bacillus Cereus* strain MER-8 (BC), waktu kontak, (A) 5 hari, (B) 10 hari, (C) 15 hari

Mekanisme biodegradasi pirena oleh isolat BC, relatif mirip dengan proses biodegradasi pirena oleh bakteri AF, namun sedikit berbeda dengan mekanisme biodegradasi menggunakan BS, seperti yang tampak pada Gambar 9.3. Kesamaan mekanisme biodegradasi yang terjadi terhadap pirena menggunakan isolat BC dan AF dapat dilihat pada jumlah puncak baru yang terbentuk, yakni 4 buah dan waktu retensi sama setiap puncak baru, menunjukkan jenis senyawa organik yang terbentuk dari hasil biodegradasi relatif sama. Hal ini realistis karena kedua isolat (AF dan BC) merupakan isolat bakteri yang teridentifikasi pada satu sampel air laut, sedangkan isolat BS diisolasi dari sumber berbeda yakni spons *Callyspongia* sp, meskipun demikian tidak dapat dikatakan bahwa proses biodegradasi yang terjadi pada senyawa PAH akan sama jika menggunakan isolat bakteri dari sumber yang sama dan proses berbeda jika menggunakan isolat bakteri dari sumber yang berbeda.

Karakteristik suatu bakteri ditunjukkan oleh strain. Jika strain bakteri berbeda, menunjukkan karakteristik bakteri berbeda meskipun berasal dari sumber sama atau bahkan dalam sampel yang sama. Isolasi bakteri dari satu jenis sampel kadang teridentifikasi beberapa jenis bakteri dengan strain yang berbeda-beda.

9.4.4 Perubahan Konsentrasi Pirena

Kinerja isolat bakteri mendegradasi senyawa pirena ditentukan berdasarkan penurunan konsentrasi komponen substrak tersebut diukur setelah terjadi kontak dalam beberapa hari. Tingkat biodegradasi dapat ditentukan dengan menghitung jumlah penurunan konsentrasi senyawa pirena berdasarkan waktu kontak dalam satuan hari. Konsentrasi pirena yang terdegradasi oleh tiga jenis isolat bakteri uji dapat dilihat pada Tabel 9.2, berikut:

Tabel 9.2 Kinerja isolat Bakteri dalam mendegradasi senyawa pirena diukur berdasarkan waktu kontak dalam hari

Waktu kontak (hari)	Konsentrasi Pirena (ppm)	Penurunan konsentrasi pirena (ppm)	Tingkat Degradasi (%)
<i>Alcaligenes faecalis</i> strain Cu4-1 (AF)			
0	100,09	00,00	00,00
5	68,12	31,97	31,94
10	12,02	88,07	87,99
15	2,35	97,74	97,65
<i>Bacillus subtilis</i> strain BAB-1684 (BS)			
0	100,09	00,00	00,00
5	75,35	24,74	24,72
10	36,16	63,93	63,87
15	6,86	93,23	93,15
<i>Bacillus Cereus</i> strain MER-8 (BC)			
0	100,09	00,00	00,00
5	59,87	40,22	40,18
10	28,46	71,63	71,57
15	4,73	95,36	95,27

Berdasarkan Tabel 9.2, di atas menunjukkan bahwa konsentrasi pirena turun seiring dengan bertambahnya waktu kontak. Penurunan konsentrasi pirena signifikan terjadi pada kontak hari ke 5 hingga hari ke 10, selanjutnya tren penurunan konsentrasi tidak signifikan pada kontak hari ke 15 hingga hari ke 25. Tren penurunan konsentrasi pirena dalam media degradasi semakin lemah yang terjadi pada penggunaan ketiga jenis isolat yang berbeda, meskipun terlihat bahwa penurunan konsentrasi pirena lebih tajam pada penggunaan isolat AF disusul BC dan terakhir BS.

Kondisi ini berdampak pada nilai tingkat biodegradasi yang ditunjukkan oleh ketiga jenis isolat. Tingkat biodegradasi isolat terhadap pirena diukur pada waktu kontak sama, berturut-turut isolat *Alcaligenes faecalis* strain Cu4-1 (AF) mencapai 97, 65 %, *Bacillus Cereus* strain MER-8 (BC) mencapai 95, 27 % dan *Bacillus subtilis* strain BAB-1684 (BS) dengan nilai 93, 15 %. Urutan tingkat biodegradasi isolat bakteri terhadap pirena diprediksi sebelumnya pada tren peningkatan kerapatan optik media. Semakin tinggi nilai kerapatan optik menunjukkan semakin banyak sel bakteri dalam media yang membela dan berpotensi memproduksi zat karakter enzim sebagai respon ancaman sel yang diterima dari lingkungan ekstrim terkontaminasi pirena.

Tingkat biodegradasi isolat bakteri terhadap piren dipengaruhi oleh faktor: (1) jumlah sel bakteri yang berbeda. Semakin banyak jumlah sel kemungkinan kemampuan degradasi terhadap hidrokarbon semakin tinggi; (2) Keasaman media degradasi. Hasil biodegradasi menghasilkan senyawa organik bersifat asam yang dapat melemahkan sel bakteri untuk membelah diri dan menurunkan kemampuan memperbesar ukuran sel, (3) Kemampuan dan kecepatan isolat bakteri beradaptasi dengan media atau lingkungan ekstrim tercemar pirena. Kinerja isolat bakteri mendegradasi pirena dapat berbeda antara satu jenis isolat dengan jenis isolat lainnya. Kinerja isolat dilihat pada nilai tingkat degradasi.

9.5 Komponen hasil biodegradasi pada Media Kontak

Senyawa organik yang teridentifikasi dalam media degradasi setelah kontak antara isolat bakteri dengan pirena merupakan hasil biodegradasi. Jenis dan nama senyawa organik ini ditentukan berdasarkan hasil pembacaan kromatogram pada pengukuran GC-MS. Nama senyawa yang tertera pada library dipilih yang memiliki kualitas kemiripan 95 % disesuaikan dengan nomor puncak dan waktu retensi. Tabel 9.3, berikut adalah Komponen hasil identifikasi senyawa organik dalam kultur setelah kontak antara isolat bakteri dengan pirena diukur pada waktu kontak 15 hari. Senyawa yang teridentifikasi ini merupakan produk hasil biodegradasi substrak (pirena) oleh degradator bakteri uji. Terlihat bahwa hasil kerja biodegradasi isolat bakteri AF relatif sama dengan BC, baik pada jumlah komponen yang terbentuk, waktu retensi komponen dan jenis senyawa yang dihasilkan, sedangkan komponen organik hasil

biodegradasi isolat BS sedikit berbeda dengan hasil yang diperoleh menggunakan AF dan BC

Tabel 9.3 Komponen Senyawa Organik teridentifikasi pada media hasil biodegradasi tiga jenis isolat bakteriberdasarkan waktu kontak dalam hari

Nomor Komponen	Waktu Retensi (RT)	Komponen teridentifikasi
<i>Alcaligenes faecalis</i> strain Cu4-1 (AF)		
x	24.76	Pirena
1	21,58	Difenil asetilen
2	11,02	1-metil-4-(1metiletenil) siklopentan
3	24,40	asam 6-oktadekanoat metil ester
4	11,22	1-metil-4-(1metiletenil) sikloheksan
<i>Bacillus subtilis</i> strain BAB-1684 (BS)		
x	24.76	Pirena
1	24,48	As. <i>p</i> -metil-Benzoat
2	21,58	Difenil asetilen
3	11,02	1-metil-4-(1metiletenil) siklopentan
4	24,40	asam 6-oktadekanoat metil ester
5	11,22	1-metil-4-(1metiletenil) sikloheksana
<i>Bacillus Cereus</i> strain MER-8 (BC)		
x	24.76	Pirena
1	21,58	Difenil asetilen
2	11,22	1-metil-4-(1 metiletenil) sikloheksan
3	24,40	asam 6-oktadekanoat metil ester
4	11,22	1-metil-4-(1 etiletenil) siklopentan

Tabel 9.3, di atas menunjukkan bahwa komponen senyawa organik hasil biodegradasi yang teridentifikasi dalam media menggunakan isolat bakteri AF, BS dan BC. Perbedaan ditunjukkan pada jumlah puncak baru yang muncul sebanyak 5, demikian pula jenis komponen organik yang diidentifikasi. Identifikasi komponen asam *p*-metil-benzoat pada media menggunakan isolat bakteri BS, tidak ditemukan pada penggunaan isolat bakteri AF dan BC. Hal ini menunjukkan bahwa mekanisme kerja yang ditempu isolat BS dalam mendegradasi pirena berbeda dengan mekanisme yang terjadi pada biodegradasi menggunakan isolat AF dan BC. Perbedaan ini rasional karena isolat BS diperoleh dari isolasi spons *Callyspongia* sp sedangkan sumber isolat AF dan BC diisolasi dari sampel air laut yang diduga kuat terkontaminasi komponen hidrokarbon.

Memperhatikan komponen organik hasil biodegradasi yang kebanyakan masih berupa senyawa hasil antara, menunjukkan bahwa isolat uji belum mendegradasi pirena secara tuntas menghasilkan komponen organik sederhana. Kasus seperti di atas mengindikasikan beberapa hal, diantaranya

1. Waktu kontak antara isolat bakteri sebagai degradator terhadap substrak (pirena) masih perlu ditambah,
2. Perlu penambahan nutrisi dalam media degradasi secara kontinu;
3. Diperlukan beberapa jenis bakteri yang berkerja secara paralel dalam satu media degradasi untuk mendegradasi pirena dan jenis PAH lainnya dengan cincin yang lebih banyak;
4. Perlu ada modifikasi faktor degradasi, seperti konsorsium bakteri, pemberian nutrisi dan variabel lain yang memberi pengaruh pada tingkat degradasi yang dicapai

Kerapatan optik, waktu retensi terhadap kelimpahan komponen, Tingkat biodegradasi, konsentrasi pirena dalam media yang tidak terdegradasi serta jenis komponen organik hasil biodegradasi adalah variabel yang harus dianalisis untuk menentukan kemampuan isolat bakteri yang digunakan mengedradasi pirena berdasarkan waktu kontak. Kecepatan biodegradasi pirena dipengaruhi oleh kemampuan isolat bakteri mereduksi senyawa pirena yang dijadikan sebagai sumber karbon untuk memenuhi kebutuhan energi bakteri, sehingga waktu hidup bakteri dalam media ekstrim terkontaminasi pirena berlangsung lebih lama. Berdasarkan parameter kerapatan optik, kelimpahan pirena, Tingkat biodegradasi, konsentrasi pirena dan jenis komponen organik hasil degradasi, disimpulkan bahwa: (1) Tiga Isolat, yakni: *Alcaligenes faecalis* strain Cu4-1, *Bacillus subtilis* strain BAB-1684 (BS), *Bacillus Cereus* strain MER-8 (BC) dapat mendegradasi senyawa pirena, (2) Urutan tingkat biodegradasi isolat bakteri mendegradasi senyawa pirena AF (97, 65 %) > BC (95, 27 %) > BS (93, 15 %), (3) Kemampuan degradasi pirena oleh bakteri yang diisolasi dari air laut relatif lebih tinggi dibandingkan bakteri yang disolasi dari spons *Callyspongi* sp, (4) Komponen organik hasil biodegradasi isolat AF dan BC tidak sama dengan komponen organik hasil biodegradasi isolat BS disebabkan karena perbedaan karakter isolat uji yang digunakan.

BAB 10 POTENSI ALAM SEBAGAI MATERIAL BIODEGRADASI HIDROKARBON

10.1 Mikroorganisme Degradator Hidrokarbon

Mikroorganisme memegang peran kunci dalam proses biodegradasi substrak. Mekanisme kerja mikroorganisme dalam mendegradasi jenis substrak menempu jalur reaksi enzimatik dengan menginstroduksi simpul-simpul aktif dari substrak, sehingga molekul oksigen dan hidrogen dapat masuk dalam struktur molekul substrak. Proses ini merupakan reaksi oksidasi menggunakan enzim oksigenase atau sejenisnya. Mikroorganisme terstimulasi untuk memproduksi zat berkarakter enzim atau zat enzim sebagai respon dan upaya bakteri mengatasi predator yang menyerang dirinya di habitatnya. Predator tersebut dapat berupa limbah hidrokarbon dengan kandungan komponen alifatik berat atau PAH bahkan juga dapat berupa logam berat dengan toksisitas tinggi atau akumulasi ketiganya. Jika predator tersebut berupa limbah *sludge* minyak bumi dengan komponen penyusunnya adalah beberapa jenis hidrokarbon alifatik, beberapa jenis hidrokarbon aromatik apalagi jenis polisiklik aromatik dan bahkan diketahui bahwa umumnya minyak bumi selain mengandung PAH juga terkontaminasi dengan beberapa jenis logam berat. Komponen-komponen tersebut merupakan limbah kategori bahan berbahaya dan beracun, apabila masuk atau mengkontaminasi pada lingkungan baik pada tanah, air dan lainnya menyebabkan area tersebut menjadi ekstrim yang memaksa mikroorganisme yang ada di dalamnya harus mengadaptasikan diri dengan mengubah susunan basa nitrogennya agar dapat bertahan hidup dalam lingkungan ekstrim tersebut. Salah satu cara yang ditempu oleh mikroba ini dengan memproduksi zat spesifik berkarakter enzim. Kondisi inilah menyebabkan mikroorganisme yang ada meskipun berasal dari sumber yang sama dapat memiliki sifat atau karakter yang berbeda, sehingga dipahami bahwa pada prinsipnya semua jenis substrak dapat didegradasi atau mengalami biodegradasi oleh adanya kerja mikroorganisme (bakteri, jamur, fungi) dan lain sebagainya, hanya saja

berbeda dalam jalur degradasi yang ditempu termasuk waktu yang dibutuhkan untuk mendegradasi dan faktor lainnya.

10.2 Sumber Material Biodegradator Hidrokarbon

Material degradasi adalah materi, bahan, subjek yang dapat bekerja sebagai degradator. Salah satu material degradator yang paling banyak dikenal saat ini adalah mikroorganisme hidup, sehingga dalam kerja degradasi yang melibatkan aktivitas biologi material disebut biomaterial dan metode atau proses degradasi yang terjadi disebut biodegradasi. Mikroorganisme yang paling umum diketahui mampu diaplikasikan dalam mendegradasi bahan terdegradasi atau substrak adalah mikroba atau bakteri, fungi, jamur dan material lainnya. Sumber biomaterial ini dapat berasal dari banyak tempat baik dalam bentuk indegenous maupun eksogenous yang diperoleh umumnya dengan cara di isolasi dan sebagian diperoleh dengan ekstraksi. Beberapa bakteri sebagai biomaterial degradator misalnya dapat diperoleh atau diisolasi dari tumbuhan misalnya mangrove, mikroba simbiosis biota laut (spons, moluska), sumber dari air laut, sedimen laut yang terkontaminasi limbah tertentu (hidrokarbon), lokasi penyimpanan limbah, isolat dari tanah atau lumpur yang tercemar limbah hidrokarbon atau logam berat, atau dapat pula berasal dari material hasil pelapukan misalnya kayu baik untuk bakteri maupun jenis fungi tertentu contohnya lignin.

10.2.1 Biodegradator dari Tumbuhan

Banyak mikroorganisme yang diekstrak dari tumbuhan dapat dimanfaatkan dalam biodegradasi komponen hidrokarbon. Diketahui bahwa mikroorganismse dapat tumbuh pada rhizofe yaitu suatu area eksudat atau bagian dari banyak sel yang telah mengalami mutasi dan keluar dari jaringannya, dimana bagian ini mengandung karbohidrat, vitamin dan asam organik serta senyawa penting lainnya. Beberapa bakteri yang telah diisolasi dari ekosistem mangrove seperti *photosynthetic anoxygenic* merupakan bakteri sulfur, bakteri pemfiksasi nitrogen, *methanogenic* dan *methane oxidizing bacteria*, *phosphate solubilizers bacteria*. *Dinela* yeast yang menyerupai fungi yaitu, *Aureobasidium pullulans*, telah diteliti dapat mendegradasi polivinil klorida (PVC), yaitu suatu polimer dari plastik. Bakteri-bakteri yang dapat mendegradasi

plastik juga diduga kuat dapat mendegradasi hidrokarbon, namun hal ini perlu dilakukan penelitian lebih dalam, sehingga dapat dipastikan jenis bakteri, strain/karakter bakteri dan mekanisme degradasi yang dapat dilalui termasuk tingkat dan produk degradasinya.

10.2.2 Biodegradator dari Fungi dan Jamur

Beberapa jenis bakteri potensial pendegradasi komponen hidrokarbon baik jenis alifatik maupun aromatik yang dapat diisolasi dari jamur atau fungi. Pemanfaatan bakteri dari fungi dalam metode degradasi komponen hidrokarbon lebih dikenal dengan istilah Mikoremediasi, yaitu penggunaan isolat jamur mikroorganisme pengurai komponen hidrokarbon. Kata Miko menunjukkan arti jamur atau fungi. Pemanfaatan jamur sebagai biodegradator komponen hidrokarbon pertama kali diperkenalkan oleh Paul Stamets yang menggunakan jamur *Mycelia* pada proses bioremediasi yang menyimpulkan bahwa salah satu peran utama jamur dalam ekosistem adalah melakukan dekomposisi yang merupakan kerja dari miselium. Miselium ekstraselular berfungsi mengeluarkan atau memproduksi enzim dan asam fungsi untuk memecah lignin dan selulosa yang merupakan penyusun utama tanaman berserat. Lignin dan selulosa dipahami sebagai komponen organik yang mengandung rantai karbon panjang dan hidrogen yang secara struktural memiliki kemiripan dengan polutan organik, sehingga memungkinkan dilakukan penerapan medel remedasi misalnya dengan cara fitofiltrasi.

10.2.3 Biodegradator Simbion dan Biomassa Spons Laut dan Alga

Spons laut merupakan hewan atau biota laut yang sebagian struktur tubuhnya disusun oleh biomassa dan juga umumnya bersimbiosis dengan banyak jenis mikroba. Jenis mikroba atau bakteri simbiosis spons sangat ditentukan oleh kandungan organik pada habitat spons dan juga oleh jenis predator yang memberi ancaman terhadap kehidupan spons tersebut. Beberapa jenis bakteri simbiosis spons diketahui mampu bertindak sebagai biodegradator limbah hidrokarbon baik jenis alifatik maupun aromatik. Biomassa spons juga diketahui dapat terstimuli tumbuhnya karena merupakan mengandung jenis bakteri tertentu dan bakteri-bakteri tersebut juga dapat mendegradasi komponen hidrokarbon. Pemanfaatan bakteri

simbion spons dalam teknik biodegradasi hidrokarbon diawali dengan mengisolasi bakteri simbion dengan memilih spons potensial.

Pemilihan spons sebaiknya yang permukaan tubuhnya tertutup oleh lendir atau sejenis lumpur yang menandakan bahwa spons tersebut aktif memproduksi zat berkarakter enzim. Selanjutnya dilakukan isolasi bakteri, analisis morfologi isolat yang diperoleh dan dilakukan pemurnian untuk mendapatkan isolat tunggal. Langkah selanjutnya adalah uji pendahuluan isolat tunggal pada media terkontaminasi hidrokarbon dan isolat yang positif memiliki aktivitas pada media terkontaminasi hidrokarbon selanjutnya di kultur untuk perbanyak sel. Perhitungan jumlah sel dan uji coba proses biodegradasi dengan menginteraksikan suspensi bakteri simbion dengan jenis limbah agar terjadi proses degradasi oleh bakteri tersebut. Untuk memastikan karakter bakteri simbion, dapat dilakukan analisis fenotip atau uji biokimia isolat pada beberapa media uji termasuk dilakukan genimisasi isolat untuk mengetahui spesies dan strainnya. Proses biodegradasi dengan menginteraksikan limbah hidrokarbon dengan suspensi bakteri simbion spons. Umumnya limbah yang dipilih dapat berupa *sludge* minyak bumi, limbah yang mengandung komponen PAH atau gabungan keduanya. Informasi tentang jenis bakteri simbion spons pendegradasi, maka dilakukan analisis genotip menggunakan instrumentasi *Polymerase Chain Reaction* (PCR) untuk mengetahui genomik sel-sel bakteri, spesies dan strain dari bakteri simbion spons.

Biodegradasi komponen hidrokarbon juga dapat dilakukan dengan menggunakan degradator biomassa spons. Biomassa spons diperoleh dengan cara memotong bagian tubuh spons setelah dibersihkan dengan air laut steril lalu diblender. Slurry hasil blender disaring atau bisa dengan cara didekantasi atau dapat dilakukan dengan sentrifugasi, untuk memisahkan kaldu/filtrat dan residunya. Filtrat selanjutnya di inkubasi dan siap untuk digunakan dalam degradasi hidrokarbon. Beberapa jenis bakteri simbion spons berikut yang telah di ujicoba dalam metode biodegradasi komponen alifatik dan aromatik hidrokarbon, diantaranya: *Pseudomonas stutzeri* RCH2 diisolasi dari spons *Petrosia (Strongylophora) corticata*, *Bacillus cohnii* strain DSM 6307 dan *Bacillus pumilus* strain GLB197 keduanya merupakan isolat dari spons *Niphates* sp, *Bacillus licheniformis* strain

ATCC 9789 diisolasi dari spons *Auleta* sp, *Pseudomonas stutzeri* strain SLG510A3-8 diisolasi dari spons *Hyrtios erectus*, *Bacillus* sp. AB353f partial AB353f diisolasi dari *Neopetrosia* sp, *Acinetobacter calcoaceticus* strain PHCDB14 diisolasi dari *Callyspongia aerizusa*, serta bakteri *Bacillus subtilis* strain BAB-1684 dan *Bacillus flexus* strain PHCDB20 keduanya diisolasi dari spons *Callyspongia* sp. Spons-spons tersebut di atas diperoleh dari Pantai Melawai Balikpapan Kalimantan Timur dan juga diperoleh dari Pulau Kodingareng Keke, gugusan Kepulauan Spermonde. Wilayah administratif Pemkot Makassar, Sulawesi Selatan.

10.2.4 Isolat dari Lindih Sampah, dan Tanah Terkontaminasi Hidrokarbon

Mikroorganisme dengan berbagai jenis, juga dapat ditemukan di tempat pembuangan sampah. Sampah dengan berbagai jenis komponen memungkinkan tumbuhnya beraneka ragam dan variasi mikroba yang tidak menutup kemungkinan terdapat jenis mikroba yang berpotensi sebagai biodegradator komponen hidrokarbon melalui metode fitodegradasi. Adanya sampah plastik, dan jenis sampah yang mengandung minyak atau terkontaminasi dengan minyak bumi, seperti buangan solar bekas, oli dan sejenisnya termasuk minyak bekas penggorengan diduga dapat memberi stimulasi untuk tumbuhnya secara alami berbagai jenis bakteri yang mampu mengurai komponen-komponen sampah yang mengandung minyak bumi.

Beberapa jenis mikroba dilaporkan dapat mengurai komponen tumpahan minyak bumi pada permukaan tanah. Bakteri-bakteri golongan bacillus dan pseudomonas yang merupakan bakteri indigenous sampah diketahui dapat menyisihkan konsentrasi BTEX. Hal ini menunjukkan bahwa teori yang menyatakan bahwa semua jenis substrak dapat didegradasi oleh enzim yang diproduksi oleh bakteri yang hidup pada area terkontaminasi suatu jenis substrak misalnya minyak bumi.

10.2.5 Isolat dari Air Laut dan Sedimen

Beberapa bakteri alami yang diisolasi dari contoh sedimen laut untuk melihat kemampuan bakteri dalam mendegradasi tumpahan minyak bumi dengan variasi lingkungan pada skala laboratorium. Dilakukan dengan mengambil sedimen pada area tumpahan minyak bumi akibat

kecelakaan kapal tanker dengan kode beberapa stasiun, sehingga metode remediasi sulit dilakukan termasuk dengan penerapan model fitoekstraksi. Sedimen dilarutkan dengan air laut steril, kemudian proses isolasi bakteri, isolat yang diperoleh dikultivasi, selanjutnya diadaptasikan pada media air laut terkondisi nutrien. Proses selanjutnya adalah biodegradasi terhadap minyak mentah dengan mencampur suspensi bakteri dan minyak mentah kemudian dikocok selama beberapa hari lalu dihitung jumlah minyak yang tersisa pada labu didih. Pada proses ini diamati jumlah populasi bakteri beserta perubahan pH larutan. Seluruh isolat bakteri pada masing-masing stasiun menunjukkan bahwa terjadi proses biodegradasi yang ditandai dengan penurunan konsentrasi minyak bumi dan grease beserta kenaikan populasi bakteri dan penurunan nilai pH. Persentase biodegradasi tertinggi mencapai tingkat degradasi 88.64%, dan diketahui pula berdasarkan hasil pengukuran Kromatografi Gas – Spektrometri Massa (GC-SM) komponen terdegradasi paling banyak adalah parafinik, juga mampu mengurangi konsentrasi senyawa toluena dan benzena. Jenis bakteri yang diisolasi dari sedimen laut teridentifikasi mampu mendegradasi komponen hidrokarbon adalah *Raoultella sp*, *Enterobacter sp*, dan *Pseudomonas sp*.

Bakteri-bakteri yang diisolasi dari sedimen dan air laut yang diketahui mampu mendegradasi komponen hidrokarbon adalah *Beggiatoa*, *Thiothrix*, *Thiovolum*, *Thiobacillus*, *Actinomyces*, *Corynebacterium* dan jenis *Bacillus*. Bakteri-bakteri tersebut digolongkan sebagai bakteri hidrokarbonoklastik, yaitu bakteri yang mampu mendegradasi komponen hidrokarbon dalam laut.

10.2.6 Isolat dari Penampungan Limbah Hidrokarbon

Proses bioremediasi atau mungkin biodegradasi pada lingkungan alami secara langsung telah terjadi dengan keberadaan mikroorganisme yang terdapat pada limbah minyak bumi, meskipun laju degradasi yang terjadi berjalan lambat. Proses bioremediasi alamiah ini terjadi karena pada suatu ekosistem secara normal akan melaksanakan proses-proses dengan berbagai cara alami untuk mencapai keseimbangan sistem ekologi akibat perubahan lingkungan tempat hidupnya yang terjadi dengan keberadaan atau adanya masukan limbah yang memberi pengaruh besar pada berupahan ekosistem tersebut, sehingga secara alamiah proses pemulihan limbah oleh mikroorganisme setempat sudah terjadi dengan

sendirinya. Penguraian atau perombakan dengan jalan destruksi atau sifatnya hanya mereduksi yang terjadi secara biologis disebut merupakan proses biodegradasi. Beberapa riset atau eksperimen yang telah dilakukan untuk menguji kemampuan bakteri yang hidup dan diisolasi dari penampungan limbah minyak bumi bakteri *Acinetobacter baumannii*, *Nitrobacter sp*, dan *Pseudomonas aeruginosa*.

10.3 Potensi Pemanfaatan Mikroorganisme dalam Metode Biosorpsi Logam Berat

Indonesia merupakan lokasi utama untuk penambangan emas skala kecil. Lokasi penambangan emas skala kecil yang ada di Indonesia telah diidentifikasi mencapai 713 tempat. Lokasi-lokasi tersebut seperti di daerah Ternate Maluku Utara, Bombana Sulawesi Tenggara, Lombok Barat Nusa Tenggara Barat dan berbagai lokasi lainnya yang tersebar dari ujung barat Indonesia yakni Sabang sampai ke Merauke ujung Timur Indonesia. Penambang umumnya menggunakan metode amalgamasi merkuri karena dianggap efisien dan hanya membutuhkan investasi kecil. Meskipun diasumsikan efisiensi penggabungan merkuri, kemampuan merkuri untuk memulihkan emas dari bijih sangat tergantung pada ukuran dan geokimia partikel emas. Metode ini hingga saat ini masih dianggap baik untuk penambangan skala kecil, namun seringkali menimbulkan masalah lingkungan karena sangat rentan terjadinya kehilangan merkuri dan masuk ke lingkungan melalui pembuangan air yang digunakan untuk penggilingan, dan tailing. Metode lainnya yang dapat diterapkan adalah model fitotoksistas atau model fitostabilisasi lahan, sehingga kadar logam berat dapat dikurangi. Pembuangan tailing amalgamasi emas di lokasi penambangan sulit dihindari terlebih lagi bahwa penambangan emas skala kecil umumnya dikelola tanpa adanya manajemen dan pengawasan, sehingga merkuri dari penambangan sering terbuang ke lahan pertanian memberi dampak negatif pada produksi pertanian seperti padi, dan tanaman perkebunan misalnya jagung dan lain sebagainya, sehingga masyarakat petani dan secara umum penduduk yang mengkonsumsi hasil-hasil pertanian dari lahan yang tercemar mercury rentan mengalami klorosis atau suatu gejala utama keracunan merkuri dalam tanaman. Oleh karena itu, teknik remediasi untuk menghilangkan logam ke arah

rehabilitasi situs yang tercemar logam berat mercury menjadi suatu kebutuhan.

Selama dekade terakhir, ada peningkatan minat dalam kemungkinan menggunakan vegetasi untuk memulihkan situs yang terkontaminasi logam berat. Teknik ini yang secara umum didefinisikan sebagai fitoremediasi, dapat mewakili alternatif berbiaya rendah untuk teknik konvensional, seperti pemindahan tanah dan penutup tanah. Teknik fitoremediasi telah menjadi salah satu pilihan untuk ekstraksi logam dari tanah yang terkontaminasi logam berat. Mekanisme dari metode ini adalah tanaman mengambil logam berat dari tanah. Beberapa spesies tanaman liar yang dievaluasi diketahui berpotensi sebagai fitoremediator logam berat, khususnya logam merkuri, yaitu *Lindernia crustacea* (L.) F., *Paspalum conjugatum* L., dan *Cyperus kyllingia* Endl. Ketiga jenis tanaman ini sangat potensial sebagai fitoremediator Hg karena tanaman ini efisien untuk mengambil dan memindahkan merkuri dari akar ke pucuk. Karenanya keberhasilan teknik fitoremediasi tergantung pada ketersediaan logam dalam tanah untuk serapan tanaman. Sebagai contoh, Hg yang sebagian besar ditemukan di dalam tanah sebagai kontaminan kompleks yang tidak bermuatan sedangkan dalam larutan tanah memiliki kelarutan yang juga terbatas, sehingga ketersediaannya rendah untuk penyerapan tanaman, penyerapan Hg oleh tanaman akan tergantung pada kemampuan tanaman untuk mengontrol proses yang dapat meningkatkan konsentrasi Hg dalam larutan tanah. Partisi Hg dari fase padat ke larutan tanah akan terjadi sebagai konsekuensi dari reaksi koordinatif di mana ion Hg dipertukarkan dengan molekul air untuk beberapa ligan pilihan yang sesuai sehingga terbentuk senyawa kompleks.

Contoh lain untuk tanah terkontaminasi logam berat merupakan masalah lingkungan misalnya Di Taiwan, lebih dari 250 lokasi yang tercemar logam berat telah diidentifikasi oleh Administrasi Perlindungan Lingkungan Taiwan. Lokasi terkontaminasi logam berat tersebut membutuhkan perbaikan segera, karena logam berat tidak dapat dengan mudah dihilangkan atau dihancurkan oleh mekanisme alami, mereka akan bertahan di lingkungan bawah permukaan untuk periode waktu yang lama setelah pelepasan karena itu, tanah yang tercemar oleh logam berat harus diperbaiki untuk mengurangi dampak yang mungkin diterima terhadap

kesehatan manusia dan ekosistem terkait. Teknologi pencucian tanah adalah salah satu metode remedial eksitu tanah yang dikenal untuk menghilangkan atau mengabsorpsi logam berat. Opsi perbaikan tanah terkontaminasi logam berat dengan teknik remediasi dapat diterapkan untuk penghilangan berbagai jenis kontaminan dengan menempu mekanisme reaksi oksidasi-reduksi (redoks), surfaktan, agen pembentuk *chelating*, ataupun dengan pembentukan larutan asam untuk menghilangkan polutan dari tanah yang terkontaminasi logam berat. Mekanisme pertukaran ion, presipitasi, adsorpsi, dan khelasi logam berat dalam tanah dilakukan dengan mentransformasikan atau memindahkan dari tanah ke fase cair, dan kemudian dipulihkan dalam bentuk lindi atau diolah menjadi pembuangan akhir, dengan demikian sifat-sifat tanah dan sifat-sifat lainnya berubah setelah proses pencucian tanah, dan dengan demikian, nila dan fungsi tanah akan menjadi lebih baik sehingga dapat di aplikasikan untuk penggunaan pertanian. Contoh pada model EDTA (Etilen diamnin tetra asetat)) sering diaplikasikan sebagai agen pencuci tanah untuk ekstraksi logam berat, namun biodegradabilitasnya yang kurang baik, sehingga sifat tanah tidak mengalami kemajuan yang berarti. Penggunaan metode lainnya untuk pencucian yang ramah lingkungan dan tidak beracun untuk proses pencucian tanah adalah suatu keharusan untuk mencegah risiko terhadap kesehatan manusia dan ekosistem. γ -poliglutamat asam (γ -PGA) adalah salah satu biopolimer ekstraseluler yang diproduksi oleh mikroba, seperti *Bacillus subtilis* dan *Bacillus licheniformis* melalui reaksi fermentasi dapat terjadi secara alami. Bahan-bahan kimia yang dapat hancur secara biologis dan dapat digunakan sebagai substrat untuk meningkatkan pertumbuhan mikroorganisme. Tingkat biodegradasi PGA mencapai 0,1 mg/hari. Pembentukan unit asam L-glutamat dan D-glutamat yang dihubungkan dengan ikatan amida antara asam γ -karboksilat dan α -amino memiliki banyak kelompok γ -karboksil yang menyediakan kapasitas pertukaran kation tinggi dan kelompok amida yang berinteraksi dengan logam, dengan demikian, γ -PGA dinilai efektif untuk mengikat beberapa ion logam (Ni^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Al^{3+} , dan Cr^{3+}) dalam pengolahan air. Penjerapan dan pengikatan logam dari larutan menyerupai proses presipitasi, koagulasi, penyerapan karbon aktif, ekstraksi pelarut, dan pertukaran ion. Teknik ini banyak diterapkan krena

sifatnya yang tidak beracun, imunogenik, ramah lingkungan, dan proses biodegradasinya yang lebih baik, sehingga banyak diterapkan di bidang pertanian, kosmetik, makanan, dan obat-obatan, serta sebagai agen pembawa untuk enkapsulasi likopen dan isoflavon. Aplikasi γ -PGA dapat meningkatkan jumlah mikroba tanah yang dapat dibiakkan dan keanekaragaman mikroba juga meningkat serta sifat-sifat lainnya dari tanah tidak banyak terpengaruh. Aplikasi γ -PGA untuk remediasi tanah tidak menghasilkan perubahan signifikan sifat tanah, artinya hanya mengikat atau menyerap logam berat target, dimana teknik ini harus menjadi produk yang ramah lingkungan untuk digunakan di lingkungan.

Logam adalah sekelompok polutan yang sangat berbahaya, karena beracun dan sifatnya yang hampir tidak terbatas sehingga keberadaannya dalam lingkungan sangat masif. Logam berat tidak dapat dihancurkan tetapi hanya dapat diubah dari satu tahap oksidasi atau kompleks organik ke tahap lainnya. Polusi biosfer dengan logam beracun telah meningkat secara dramatis sejak awal revolusi industri. Sumber utama polusi logam berat dari pembakaran bahan bakar fosil, penambangan dan peleburan bijih logam, industri metalurgi, limbah kota, pupuk, pestisida, dan pembuangan kotoran. Area yang terkontaminasi oleh aktivitas manusia, deposit mineral alami yang mengandung jumlah besar logam berat terdapat di banyak wilayah. Meningkatnya kebutuhan untuk mengatasi kontaminasi lingkungan atas kontaminasi logam berat, maka dibutuhkan banyak teknologi remediasi lahan dan telah dikembangkan untuk mengolah tanah yang terkontaminasi atau terpapar logam berat. Teknologi pengolahan lahan terpapar logam berat yang banyak diterapkan terutama metode remediasi berbasis mekanis atau fisiologis kurang efisien, sehingga teknologi yang muncul kemudian adalah secara biologis yaitu dikenal dengan fitoremediasi. Fitoremediasi memanfaatkan proses okulasi alami dimana tanaman dan organisme rizosfer mikroba yang menyerap, mendegradasi atau merombak polutan untuk membersihkan tidak hanya pada tanah tetapi juga pada air yang terkontaminasi dengan logam berat atau polutan organik.

Pendekatan penelitian interdisipliner yang dikombinasikan dengan serangkaian penemuan ilmiah tentang cara perbaikan lingkungan dengan berbagai pendekatan teknologi dalam metode remediasi atau

bioremediasi, misalnya biodegradasi, biodestruksi, bioreduksi komponen hidrokarbon terutama jenis polisiklik aromatik hidrokarbon, demikian pula metode biosorpsi logam berat ataupun metode fitoremediasi dengan memanfaatkan bahan organik, material maju dan mikroorganisme. Berbagai temuan ilmiah tentang bioremediasi lingkungan menarik untuk dikaji lebih lanjut dan memungkinkan pengembangan ide ini menjadi teknologi baru. Metode fitoremediasi menggunakan tanaman dan mikroorganisme rhizosfer untuk menjerap, menghilangkan, menurunkan, mereduksi, mendestruksi atau mengimobilisasi berbagai kontaminan dari tanah yang tercemar. Material penjerap juga memungkinkan diperoleh dari sedimen, air tanah, atau air permukaan. Temuan ilmiah tentang metode bioremediasi lingkungan sebagai salah satu teknologi yang direkomendasikan dalam upaya masif perbaikan lingkungan adalah salah satu solusi untuk pembersihan dan perbaikan kualitas lingkungan yang menjanjikan untuk berbagai situs yang terkontaminasi, meskipun memiliki batasan. Banyak keterbatasan dan kelebihan metode bioremediasi adalah akibat langsung dari aspek biologis dari jenis dan sistem pengolahan lingkungan yang dapat diterapkan dengan sederhana.

Teknologi remediasi nabati dapat berfungsi dengan perawatan minimal setelah diujicobakan, karena biaya perolehan material potensial lebih murah terhadap suatu pemulihan lahan dibandingkan dengan biaya pemindahan dan penggantian tanah karena proses biologis yang terjadi secara alamiah dengan bantuan energi yang digerakkan oleh matahari, dimana teknologi bioremediasi, misalnya metode fitoremediasi rata-rata lebih murah dan dapat dilakukan dengan sederhana dibandingkan dengan metode berbasis teknik.

DAFTAR PUSTAKA

- Abouelwafe, R., Addi, G. A., Souabi, S., Wterton, P., Cegarra, J., dan Hafidi, M. 2008. Aerobic Biodegradation of Sludge from The Effluent of a Vegetable Oil Processing Plant Mixed with Household Waste. Physical, Chemical, Microbiological, and Spectroscopic Analysis. *Journal Bioresource Technology*, Vol. 99:8571-8577.
- Achten, C., dan Hofmann, T. 2009. Native Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) in coal A-hardly recognized source of environmental contamination. *Journal Science of The Total Environment* Vol. 407 (8):2461-2473.
- Affandi, R. & Tang, U.M. 2002. *Fisiologi Hewan Air*. Riau: Unri Press. hlm 94-98.
- Ahmad, F. 2012. Kandungan Senyawa Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) di Teluk Jakarta. *Jurnal Ilmu Kelautan UNDIP* Vol. 17(4):199-208.
- Ahmad, T., E., Suryati, and Muliani, 1995, Spons bioactive screening for bactericide in shrimp culture, *Indonesia Fisheries Research Journal*, Vol. 1 (1):1-10.
- Ahrens, M. J., dan Morrissey, D. J. 2005. *Biological Effects Of Unburn Coal In The Marine Environment*. in: *Oceanography dan Marine Biology*. CRC Press, 69-122.
- Alex S. 2012. *Sukses Mengolah Sampah Organik Menjadi Pupuk Organik*. Yogyakarta: Pustaka Baru Press.
- Allen, G.R. 1997. *Tropical Marine Life of Indonesia*. CV. Java Books. Jakarta.
- Allen, G.R. and R. Steen. 1994. *Indo-Pasific Coral Reef. Field Guide*. Tropical Reef Research. Singapore. 378 p.
- Amir, I. 1991. *Fauna Spons (Porifera) dari Terumbu Karang Genteng Besar, Kepulauan Seribu*. Oseana 24: 131 – 140.
- Amir, I. dan A. Budiyanto. 1996. *Mengenal Spons Laut (Demospongiae) Secara Umum*. *Journal Oseana*. Vol 21 (2):15-31.
- Angeline E. C. Ngantung¹, Deiske A. Sumilat¹, Robert A. Bara, 2016. Uji Aktivitas Antibakteri dari Spons Dictyonella funicularis dan Phyllospongia lamellosa yang diPeroleh dari Perairan Bunaken, *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, Vol 2 (1):10-16

- Anonim C. Metabolit sekunder *Callyspongia* sp. [Online]. 2011 September 9 [cited 2013 April 27]; Available from: <http://www.artikelkimia.info/metabolitsekunder-callyspongia-sp-1> 3021409092011
- Antizar-Ladislao, B., Lopez-Real, J. M., dan Beck, A. J. 2004. Bioremediation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) - Contaminated Waste Using Composting Approaches. *Journal Critical Reviews in Environmental Science dan Technology*, Vol.34:249-289.
- Aoki, S., Naka, Y., Itoh, T., Furukawa, T., Rachmat, R., Akiyama, S., and Kobayashi, M., 2002. Lembehsterols A and B, Novel Sulfated Sterols Inhibiting Thymidine Phosphorylase, from the Marine Spons *Petrosia strongylata*, chem. Buletin Pharm. Bull., 50 (6) 827—830.
- Arbabi, M., Nasser, S., dan Chimezie, A. 2009. Biodegradation Of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) In Petroleum Contaminated Soils. *J. Chem. Journal Chem. Eng*, Vol.28(3): 53-59.
- Asaf, R. 2009. Keterkaitan Kondisi Tutupan Karang Hidup dengan Kandungan Metabolit Sekunder Spons [Tesis]. Unhas, Makassar.
- Asro, Muhammad; Yusnaini; Halili, 2013. Pertumbuhan Spons (*Stylotella aurantium*) yang Ditransplantasi pada Berbagai Kedalaman, *Jurnal Mina Laut Indonesia*, vol. 1(1):122-144
- Astuti, P., 2003. Spons Invertebrata Laut Berpotensi Sebagai Sumber Bahan Baku Obat Alam, *Oseana*, 8 (26).
- Astuti, P., G. Alam., S.U.P. Pratiwi., T. Hertiani dan S. Wahyuono. 2003. Skrining Senyawa Antifeksi dari Spons yang Dikoleksi dari Bunaken, Manado. *Jurnal Biota*. Vol.8(2):47-52.
- Atagana, H. I. 2012. Co-Composting of PAH-Contaminated Soil With Poultry Manure. Durban, South Africa: School of Earth Science.ATSDR.U.S. 2012. Case Studies in Environmental Medicine Toxicity of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH).Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) U.S. 15-17.
- Azadeh M, Kermanshahi R, Naghavi N, Ghalayani P, Salamat F, 2011. The profil of pathogenic isolated from dental plaque- induced gingivitis. *International Journal of Molecular and Clinical Microbiology* Vol.1:36-9
- Bamforth, S. M., dan Singleton, I. 2005. Review Bioremediation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Current knowledge 77 and future directions”. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, Vol. 80:723-736.

- Banat, I. M., Makkar, R. S., dan Cameotra, S. S. 2000. Potential commercial applications of microbial surfactants. *Journal Appl. Microbiol Biotechnol*, Vol. 53:495–508.
- Barlianti, V. 2009. Fungsionalisasi Komposit PAH. Depok: Fakultas Teknik UI.
- Bautista, L. F., Sanz, R., Molina, M. C., González, N., Sánchez, D. 2009. Effect of different nonionic surfactants on the biodegradation of PAH by diverse aerobic bacteria. *Int Journal Biodeter Biodegr*, Vol. 63(7):913-922.
- Beck, A. J., Johnson, D. L., dan Jones, K. C. 1996. The form and bioavailabilitas of non-ionic organic chemicals in sewage sludge-amended agricultural soils. *Sci. Total Environ*, Vol. 185:125–149.
- Bernal, M. P., Alburquerque, J. A., dan Moral, R. 2009. Composting of Animal Manures and Chemical Criteria for Compost Maturity Assessment. A Review: *Biosource Technology*, 100:5444-5453.
- Bertoldi, M.D., Sequi, P., Lemmes, B., dan Papi, T. 1996. The Science of Composting, Part 1, Springer-Science+Business Media
- B.V.Bryer, P. J., Elliot, J. N., dan Willingham, E. J. 2006. The Effects of Coal Tar Based Pavement Sealer on Amphibian Development and Methamorphosis. USA. *Ecotoxicology*, 15:241-247.
- Bewley, C.A and Faulkner, D.J., 1998, Lithistid Sponges: Star Performers or Hosts to the Stars, *Angewandte Chemie international*, 37, 2162-2178
- Bhakuni, D.S., D.S. Rawat, 2005. *Bioactive Marine Natural Products*. Anamaya, India.
- Bhargavi S, Gopala V, Mukkanti K, Dinesh B, Krishna P, 2010. Increasing emergence of antibacterial resistance mainly in uropathogens: southest part of India. *International journal of microbiology research*. Vol. 2(1): p.01- 06
- BKSDA, 2009. *Taman Wisata Alam Pulau Kapoposang (online)*, (<http://www.ditjenphka.go.id/kawasa.html>)
- Boldrin B, A Tiehm and C Fritzsche. 1993. Degradation of phenanthrene, fluorene, fluoranthene, and pyrene by a *Mycobacterium sp.* *Applied and Environmental Microbiology* Vol. 59(6):1927-1930.
- Braekman, J. C., and Daloze, D., 1986. Chemical defence in sponss, *Pure & Appl. Chem.*, Vol. 58 (3), 357-364.
- Cerniglia, C. 1992. Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Biodegradation Journal*, Vol. 3(3):351-361.

- Cetkovic and Lada. 2003. Protein from the Marine Sponge *Suberites domuncula* *Food Technology and Biotechnology* Vol. 41(4):361
- Chi, F. 2010. Remediation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-Contaminated Soils by Nonionic Surfactants: Column Experiments. *Environmental Engineering Science*, Vol. 28(2):1-7.
- Cho, H. J., S. Ja Bae, N. D. Kim, J. H. Jung and Y.H. Cho., 2004, *Induction of Apoptosis by Dideoxypetrosynol A, A Polyasetylene from Sponges Petrosia sp., in Human Skin Melanoma Cells*, *International Journal of Molecular Medicine*, 1091-1096.
- Clarke, S., *Modern Medical Microbiology The Fundamental*, Arnold Members Of Hodder Headline, London UK. Hal 83-85.
- Cole, G.A.. 1988. *Textbook of Limnology*. Third edition. Waveland Press, Inc., Illinois, USA.
- Cooper, E.L., 2004, Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, eCAM, Vol.1, 215–217
- Cowan, M. Plant products as antimicrobial agents, 1999. *Clin Microbio Reviews*. Vol.12(4):564-82
- Dahuri, R, 2004, *Industri Bioteknologi Perairan dan Kemakmuran Bangsa*, Kompas, Gedia Press, Jakarta.
- De Voogd, N. J., Haftka, J. J. H., Hoeksema, B. W., 2005. Evaluation Of The Ecological Of Amphitoxin In The Reef-Dwelling Sponge *Callyspongia* (Euplaccella) *Biru* (Haplosclerida) At South Sulawesi, Indonesia (Online), (<http://dpc.uba.uva.nl/ctz/vol74/nr01/art04>).
- Darby, E., 1995. A. *Tutorial Superficial Fungal Infection of The Skin*, (Online). <http://www.lookshark.com/showcase/fungus/versicolor.htm>.
- de Moraes, E.B. dan Tauk-Tornisielo, S.M. 2009. Biodegradation of oil refinery residues using mixed-culture of microorganisms isolated from a landfarming. *Braz. arch. biol. technol.* vol.52no.6CuritibaNov./Dec.
- De Voogd N. Indonesian sponges: Biodiversity and marine culture potential. [Tesis]. Univ of Amsterdam: 2005
- Dewanti S., 2011. Antibacteri activity of bay leaf infuse (*Folia syzygium polyanthum* WIGHT) to *Escherichia coli* in-vitro. *Jurnal Medika Planta*. Vol. 1(4)
- Dewi, A.S., Kustiariyah Tarman., Agustinus R. Uria. 2008. *Marine Natural Products and Impacts on the Sustainable Development in Indonesia*.

Proceeding of Indonesian Students Scientific Meeting, Delft, Netherland.

Djajadisastra, A.N. 2007. Penapisan Komponen Antibakteri dan Uji Toksisitas dari Spons Perairan Taka Bonerate Sulawesi Selatan, Perikanan dan Kelautan, IPB. Bogor.

Djide, N., Sartini, Kadir, S., 2004. *Analisis Mikrobiologi Farmasi. Laboratorium Mikrobiologi Farmasi*. F.MIPA UNHAS, Makassar, 283-284

Duchassaing 1864. *Sponges Callyspongia fallax*. <http://www.Coralpedia.bioWarwick.ac.uk/en/sponges.htm>.

Duckworth, A.R., Battershill, C.N. & Bergquist, P.R. 1997. Influence of Explant Procedures and Environmental Factors on Culture Success of Three Sponges. *Aquaculture*, Vol. 165: 251-267.

Dyke, P. H., Foan, C., dan Fiedler, H. 2003. PCB and PAH releases from power stations and waste incineration processes in the UK. *Chemosphere*, Vol. 50:469–480.

Ebada S, Lin W, Proksch P. Bioactive sesterterpenes and triterpenes from marine sponges: occurrence and pharmacological significance. [Online]. [updated 2010 Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC 2852841/Uu>

Efendi, M. 2012. Pengolahan Sampah Permukiman Di Kawasan Pedesaan Kabupaten Ponorogo (Studi Kasus Kecamatan Bungkal). Jurusan Teknik Lingkungan, FTSP-ITS.ESDM.

Effendi, H.. 2003. *Telaah Kualitas Air*. Kanisius. Yogyakarta. English, S.C.; Wilkinson and Baker, V., *Survei Manual for Tropical Marine Resources*. Asean. ASEAN Australia Marine Science Project: Living Coastal Resources.

El Sayed, K. L., Kelly, M., Kara, U. K., Ang, K. H., Katsuyama, I., Dunbar, D.C., Khan, A. A., and Hamann, M.T., 2001, New Manzamine Alkaloids with Potent Activity against Infectious Disease, *J. Am. Chem. Soc.*, 123, 1804-1808.

Entjang, I., 2003. *Mikrobiologi & Parasitologi*, PT. Citra Aditya Bakti, Bandung. 100-101.

Fachrudin Mangunwijaya, 2004, *Bioteknologi Berbasis Kekayaan Hayati*, Sinar Harapan, Jakarta, <http://www.geocity.com>

Fallu, 1991., *Abalone Farming*, Fishing News Book, Oshey Mead, Oxford Oxoel, England. Fukami, A., Ikeda, Y., Kondo, S., Naganawa, H.,

- Takeuchi, T., Furuya, S., Hirabayashi, Y., Shimoike, K., Hosaka, S., 1997, Akartepin, A Novel Bioactive Tripeptide From Marine Sponge *Callyspongia* Sp, *Journal Zoology*, Vol.7(38): 1201-1202.
- Faulkner, D.J. 2000. *Marine Natural Products*. Nat. Prod.Rep. 17:7-55.
- Fernandez, P., Grimalt, J. O., dan Vilanova, R. M. 2002. Atmospheric gas-particle partitioning of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in high mountain regions of Europe. *Environl. Sci. Technol* Vol. 36(6):1162–1168.
- Gan, S., Lau, E. V., dan Ng, H. K. 2009. Remediation of Soils Contaminated with Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH). *Journal of Hazardous Materials*, Vol.172:532-549.
- Garson, M.J., 1994. The Biosynthesis of Secondary Metabolites: Why is Important. In: *Sponss in Timeand Space*, pp: 428-429, edited by R.W.M. van Soest, Th. M.G. Van Kempen and J.C.Braekman (eds.). Proceeding 4th International Porifera Congress, Amsterdam/Netherland.
- Goldstein, Allen H., Charles D. Koven, Colette L. Heald, Inez Y. Fung. 2009. *Biogenic carbon and anthropogenic pollutants combine to form a cooling haze over the southeastern United States. Proceedings of the National Academy of Sciences*.
- Gonzalez, N., Simarro, R., Molina, M. C., Bautista, L. F., Delgado, L., dan Villa, J. A. 2011. Effect of surfactants on PAH biodegradation by a bacterial consortium and on the dynamics of the bacterial community during the process. *Bioresource Technology*, Vol.102:9438-9446.
- Gordon, M. H., 1990. *The Mechanism Of Antioxidants Action In Vitro*, Elsevier Applied Science, London.
- Goud, T. V., Reddy, N. S., Swamy, N. R., Ram, T. S., and Venkateswarlu, Y., 2003, Anti-HIV Active Petrosins from the Marine Sponges *Petrosia similis*, *biol. pharm. bull.*, Vol. 26(10):1498—1501.
- Gray, C. A., De Lira, S. P., Silva, M., Pimenta, E. F., Thienmann, O. H., Oliva, G., Hajdu, E., Andersen, J. A., Berlinck, R. G. S., 2006, Sulfated Meroterpenoids from Brazilian Sponge *Callyspongia* Sp, *Org.Chem*, Vol. 71(23):8685-8690.
- Guo, Y., Gavagnin, M., Trivellone, E., Cimino, G, 1994, *Tetrahedron*, 50, 13261
- Guyot, M. 2000. *Intricate aspects of sponge chemistry. ZOOSYSTEMA*, Vol. 22: 419-431

- Hadi, T. A. 2010. Biologi dan Ekologi Spons. *Oseana. Jurnal*. Volume XXXV No. 1, 33 – 48.
- Haedar N. Purdian H., 2010. Bioaktivitas bakteri *Chromohalobacter* sp. dari spons *Callyspongia* sp. terhadap bakteri patogen. FMIPA Universitas Hassanudin.
- Haedar, Baru Sadarun, Ratna Diyah Palupi, 2016. Potensi Keanekaragaman Jenis dan Sebaran Spons di Perairan Pulau Saponda Laut, Kabupaten Konawe, *Jurnal Sapa Laut*, Vol. 1(1):1-9;
- Hanani, E., Mun'im, A., dan Sekarini, R., 2005, Identifikasi Senyawa Antioksidan Dalam Spons *Callyspongia* sp. Dari Kepulauan Seribu, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. 3(2):127-133.
- Harbane, J. B., 1987, *Metode Fitokimia*, Insitut Teknologi Bandung, Bandung.
- Hooper, J. N. A., 2003. *Sponguide: Guide to Sponge Collection and Identification*, Queensland Museum, South Brisbane, Australia.
- Haritash, A. K., dan Kaushik, C. P., 2009. Biodegradation aspects of Polycyclic AromaticHydrocarbons (PAH)". A review. *Journal of Hazardous Materials*, Vol. 169:1-15.
- Harper, M.K., T.S. Bugni, B.R. Copp, R.D. James, B.S. Lindsay, A.D.Richadson, P.C. Schnabel, D. Tasdemir, R.M. Van Wangoner, S.M Verbitski and C.M. Ireland, 2001, *Introduction to the chemical ecology of marine natural product, Marine Chemical Ecology* (James B. McClintock & Bill J. Baker Eds.) CRC Press USA. Pp 3-29.
- Harrison, F. W., and De Vos, L., 1991, *Porifera, Di dalam: Harrison FW, Westfall JA* (ed.). Microscopic Anatomy of Invertebrates. Volume 2. Placozoa, Porifera, Cnidaria, and Ctenophora. Wiley-Liss. A John Wiley & Sons, Inc., Publication. New York, Chicester, Brisbane, Toronto, Singapore, 28 –89.
- Hilyard EJ, MJ Meehan, BJ Spargo and RT Hill. 2008. Enrichment, isolation, and phylogenetic identification of polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacteria from Elizabeth River sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 74(4), 1176- 1182.
- Howard, G.T.. Polyurethane Biodegradation. *International Biodeterioration & Biodegradation* 49 (2002) 245 –252.
- Hu, M., Zhao, S., Li, C., Wang, B., Yao, C., dan Wang, Y. 2014. The influence of different Tween surfactants on biosulfurization of ground tire rubber by *Sphingomonas* sp. *Polymer Degradation dan Stability*, 107:91-97.

- Ireland, C. M., Molinski, T. F., Roll, D. M., Zabriskie, T. M., McKee, T. C., Swersey, J. C., and Foster, M. P., 1989, Natural Product Peptides from Marine Organisms, Di dalam Scheuer PJ (ed.), *Bioorganic Marine Chemistry*, Springer – Verlag, 3, 1-27.
- Ismet, *et al.*, 2011, Analisis Morfologi dan Biomassa Spons, *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, Vol. 3, No. 2 (157-165).
- Janiel. Wulff. 2000. *Sponge Predators May Determine Differences In Sponge Fauna Between Two Sets Of Mangrove Cays, Belize Barrier Reef*. Washington, D.C., U.S.A.
- Jompa, J., Moka, W., Yanuarita, D., 2010. Kondisi Ekosistem Perairan Kepulauan Spermonde: Keterkaitannya dengan Pemanfaatan Sumberdaya Laut di Kepulauan Spermonde, Divisi Pengembangan Kelautan, Universitas Hasanuddin.
- Kanally, R. A., dan Harayama, S. 2000. Biodegradation of High Molecular Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) by Bacteria. *Journal of Bacteriology*, Vol. 182(8):2059-2067.
- Kelly, M., 2001, *A Course Guide to the Sponge Taxonomy*. Workshop, Departement Of Pharmacognocny Biological Field Station University Of Mississippi and NIWA, New Zealand.
- Kim SJ, JJ Kukor, KH Oh and HY Kahng. 2006. Evaluating the genetic diversity of dioxygenases for initial catabolism of aromatic hydrocarbon in *Pseudomonas rhodesiae* KKI. *Enzyme and Micro. Tech.* Vol. 40, 71-78
- Kim SJ, O Kweon, RC Jones, JP Freeman, RD Edmondson and CE Cerniglia. 2007. Complete and integrated pyrene degradation pathway in *Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1 Based on Systems Biology. *Journal of Bacteriology*, Vol. 189(2):464-472.
- Kimura, J., Ishizuka E., Nakao Y. Yoshida W.Y, Scheuer, P.J., and Borges, K. 1998. Isolation of 1- methylherbipoline Salt of Halisulfate-1 and of Suvanine as Serine Protease Inhibitors from Marine Spons. *Coscinoderma Mathewsi*, J. Nat Prod, Vol.61(28):248- 250.
- Kunitz, M., and J.H. Northrop, 1936, Isolation from Beef Pancreas of Crystalline trypsinogen trypsin, a trypsin, and an Inhibitor- Trypsin Compound, *J. Gen. Physio*, Vol. 19(31):991 – 1007.
- Kurnanani, TB. Benito. 2012. *Diktat Kuliah Inovasi Teknologi Lingkungan: Recovery Limbah*. Program Studi Magister Ilmu Lingkungan. Universitas Padjadjaran.

- Lawson, M.P., P.R. Bergquist and R.C. Cambie. 1984. *Fattyacid Composition and The Classification of The Porifera. Biochem. System and Ecol.* Vol.12 (4):375-394
- Lee KY, Lee HJ, Lee HK., 2001, Microbial Symbiosis in Marine Sponss, *TheJournal of Microbiology*, Vol.29(4):254-264.
- Llado, S., Covino, S., Solanas, A. M., Vinas, M., Petruccioli, M., D'annibale, A. 2013. Comparative assement of biodegradation approaches to highly recalcitrant PAH degradation in a real industrial polluted soil. *Journal of Hazardous Materials*, Vol. 248:407-414.
- Lors, C., Damidot, D., Ponge, J. F., dan Perie, F. 2012. Comparison of a bioremediation process of PAH in a PAH-contaminated soil at field dan laboratory scales. *Universite Lille Nord de France*, 165:11-17.
- Lydia, M., Alfian, N., Tjodi, H., Nicole, de, V., 2014. Essential Metal Zn in Sponge *Callyspongia aerizusa* from Spermonde Archipelago, *Advances in Biological Chemistry Journal*, Vol. 4: 86-90, <http://dx.doi.org/10.4236/abc.2014.41012>
- Marzuki, I., 2016, Mikrosimbion Spons *Callyspongia Sp* sebagai Biomaterial Pendegradasi Hidrokarbon, Prosiding Seminar Nasional Kimia, Lombok-Mataram, Vol 1: 480-450; Doi [10.17605/OSF.IO/KEHVF](https://doi.org/10.17605/OSF.IO/KEHVF)
- Marzuki, I., 2016. Analisis histomorfologi dan penentuan spesies sampel spons.
<https://www.blogger.com/blogger.g?blogID=1861852228187613051&pli=1#editor/target=post;postID=1587533065395360912;onPublishedMenu=overviewstats;onClosedMenu=overviewstats;postNum=26;src=postname>
- Marzuki, I., 2016. Potensi Biodegradasi Hidrokarbon Limbah Sludge Minyak Bumi oleh Mikrosimbion dan Biomassa Spons Laut, Disertasi, Sekolah Pasca Sarjana, Universitas Hasanuddin, Makassar, URL:<https://www.researchgate.net/publication/324908844>
- Marzuki, I., Erniati, 2017. Skrining Spons Potensial sebagai Biodegradator Hidrokarbon Berdasarkan Data Morfologi, Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian (SNP2M), pp. 43-48, ISBN 978-602-60766-3-2; Doi: [10.17605/OSF.IO/M5DWS](https://doi.org/10.17605/OSF.IO/M5DWS)
- Marzuki, I., Noor, A., Djide, N.M., La Nafie, N., 2014. Isolation and Identification on Degradator Bacterial of Petroleum waste which Symbionts with Sponge *Callyspongis sp* from Melawai Beach. Proceeding: International Confrence on the sciences (ICOS), 19-20

- Nopember 2014, Makassar, ISBN : 9786027219809, pp. 493-503; Doi: [10.17605/OSF.IO/PZVKC](https://doi.org/10.17605/OSF.IO/PZVKC)
- Marzuki, I., Noor, A., Djide, N.M., La Nafie, N., 2014. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Shimbion Spons Penghasil Enzim Amilase Asal Pantai Melawai Balikpapan, *Jurnal dr.Aloei Saboe*, Vol. 1(1):11-18; Doi: [10.17605/OSF.IO/R4JYA](https://doi.org/10.17605/OSF.IO/R4JYA)
- Marzuki, I., Noor, A., Djide, N.M., La Nafie, N., 2015, Molecular characterization of gene 16S rRNA micro symbionts in sponge at Melawai Beach, East Kalimantan, *Journal Marina Chimica Acta*, Vol. 16 (1):38-46; Doi:[10.17605/OSF.IO/XKP9B](https://doi.org/10.17605/OSF.IO/XKP9B)
- Marzuki, I., Noor, A., Djide, N.M., La Nafie, N., 2015, The potensi biodegradation hydrocarbons of petroleum sludge Waste by cell biomassa sponge Callyspongia sp, *Journal Marina Chimica Acta*, 16 (2):11-20; Doi: [10.17605/OSF.IO/RCNDW](https://doi.org/10.17605/OSF.IO/RCNDW)
- Marzuki, I., Noor, A., Djide, N.M., La Nafie, N., 2015, Sponge role in alleviating oil pollution through sludge reduction, a preliminary approach, *Int. Journal of Applied Chemistry*, 11 (4):427-441; Doi: [10.17605/OSF.IO/S9HTG](https://doi.org/10.17605/OSF.IO/S9HTG)
- Marzuki, I., Noor, A., Djide, N.M., La Nafie, N., 2016. Microsymbiont and Morphological Phenotype Analysis Marine Sponge Biomass From Melawai Beach, Balikpapan, East Kalimantan, *Journal Marina Chimica Acta*, 17 (1):8-15; Doi: [10.17605/OSF.IO/P73EN](https://doi.org/10.17605/OSF.IO/P73EN)
- Marzuki, I.; Ismail, H., Enryani; Nafie La, N., Dali, S.,. 2017. Study Biodegradation of Aromatics Pyrene Using Bacterial Isolates from the Sea and micro symbionts Sponges, *International Journal of Applied Chemistry*, Vol. 13(3): 707-720. DOI: [10.17605/OSF.IO/D38PZ](https://doi.org/10.17605/OSF.IO/D38PZ)
- Marzuki, I., Eksplorasi Spons Indonesia: Seputar Kepulauan Spermonde, Makassar, Penerbit. Nas Media Pustaka, ISBN: 9786025662263
- Marzuki, I.; Sinardi; Asmeati., 2018. Karakteristik Fenotip dan Genotip Mikrosimbion Spons Niphates sp. sebagai Biomaterial Potensial Polisikloik Aromatik Hidrokarbon, *Prosiding Seminar Hasil Penelitian (SNP2M)*, pp.16-21, ISBN: 9786026076649
- Masak, P.R.P. 2003. Studi Budidaya Sponge (*Auletta* sp) Secara Transplantasi pada Substrat Berbeda. *Maritek* 3:1-9.
- Mayer, A.M.S. 1999. *Marine Pharmacology in 1998: Antitumor and Cytotoxic Compounds. The Pharmacologist*. Vol. 41 (4): 159-164.

- McNeely, R.N., Nelmanis, V.P, and Dwyer, L. 1979. *Water Quality Source Book A Guide to Water Quality Parameter*. Inland Water Directorate. Water Quality Branch. Ottawa.
- McKinney, C. 2006. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons & Coal Tar Sealants. New York: Department of Planning dan Development : Division of Water Resources.
- Mirwan, M. 2012. Pemanfaatan Sampah Kebun sebagai Bahan Baku Kompos dan Pupuk Organik Granula dengan Penambahan Kotoran Sapi sebagai Bioaktivator. Jurusan teknik Lingkungan, FTSP-ITS.
- Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putman, J.E., Jacobsen, D.E., Nichols, D.E., McLaughlin, J.L., 1982, Brine Shrimp L A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent, *Journal Planta Medica*, Vol. 45, 31-34.
- Mizwar, A., Trihadiningrum, Y. 2014. Potensi Bioremediasi Tanah Terkontaminasi Polycyclic Aromatic Hydrocarbons dari Batu bara dengan Komposting. Jurusan Teknik Lingkungan, FTSP-ITS.
- Munawir, K. 2007. Kadar Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) dalam Air, Sedimen, dan Sampel Biota di Perairan Teluk Klabat Bangka. *Jurnal Oseanol. Limnol. Indonesia*, 3Vol. 3:441-453.80
- Moertinah, Sri. 2010. *Kajian Proses Anaerobik sebagai Alternatif Teknologi Pengolahan Air Limbah Industri Organik Tinggi*. Jurnal Riset Teknologi Pencegahan dan Pencemaran Industri Vol.1 (2), Semarang: Balai Besar Pencegahan dan Pencemaran Industri.
- Morrow, Christine and Cardenas, Paco. 2015. *Proposal for a revised classification of the Demospongiae (Porifera)*. Frontier in Zoology. 12:7 (update)
- Mrozik A, ZP Seget, S., Labuzek. 2003. Bacterial degradation and bioremediation of poly cyclic aromatic hydrocarbons. *Polish Journal of Environmental Studies*, Vol. 12 (1), 15-25
- Mukaromah, E., Prijambada, I. D., Widada, J., dan Ma'sas, A. 2012. Studi Makrokosmos Bioremediasi Tanah Tercemar Minyak Bumi Melalui Inokulasi Mikroorganisme dan Pemberian Nutrisi Berulang. Jogjakarta: Laboratorium Mikrobiologi Tanah dan Lingkungan, Universitas Gadjah
- Mada.Mulligan C. N. 2005. Environmental applications of biosurfactants. *Journal Environ Pollut*, Vol. 133:183-98.

- Muniarsih T., dan Rachmaniar R., 2004 *Isolasi Substansi Bioaktif Antimikrobadari Spons Asal Pulau Pari Kepulauan Seribu*. Makalah disajikan dalam Seminar Bioteknologi Kelautan Indonesia I, Lembaga Ilmu Pengetahuan, Indonesia, Jakarta.
- Nontji, A dan R. Satari. 1996. *Potensi Pengembangan Bioteknologi Kelautan di Indonesia*, pp.49-56.
- Noor, A., 2007. *Riset Kelautan Berorientasi Terapan: Keperluan Mendesak Bagi Kawasan Timur Indonesia*. Kongres Ilmu Pengetahuan Wilayah Untuk Kawasan Timur Indonesia. Pusat Kegiatan Penelitian Universitas Hasanuddin Makassar
- Novotny, V. and Olem, H. 1994. *Water Quality, Prevention, Identification and Management of Diffuse Pollution*. Van Nostrans Reinhold. New York.
- Nurdiyanto. 2008. Makalah Surfaktan, Industrialisasi Menuju Kehidupan yang Lebih Baik. Bogor: AKA Bogor
- Permatasari, D. A. 2013. Pengolahan Limbah Padat Rumah Potong Hewan dengan Proses Pengomposan Sistem A2O. Surabaya: Jurusan Teknik Lingkungan, FTSP-ITS.
- O'Keefe, B. R., Erim, T., Beutler, J.A., Cardellina, J.H., Gulakowski, R.W.J., Krepps, B. L., McMahon, J. B., Sowder, R. C., Johnson, D. G., Buckheit, R.W.J., Halliday, S., And Boyd, M. R., 1998. Isolation and Characterization of adociavirin, a Novel HIV- Inhibitory Protein from the Spons *Adocia sp* *FEBS Lett*, Vol. 431 (44): 85 – 90.
- Ozyurt, D., Demirata, B., Apak, R., 2006, Determination Of Total Antioxidant Capacity By A New Spectrophotometric Method Based On Ce(IV) Reducing Capacity Measurement, *Talanta*, Vol. 24:273- 282.
- Parenrengi, A., E. Suryati, Dalfiah, dan Rosmiati. 1999. Studi Toksisitas Ekstrak Sponge *Auleta sp*, *Callispongia sp*, dan *Callispongia pseudoreticulata* Terhadap Nener Bandeng (*Chanos chanos*). *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Departemen Pertanian, Jakarta, Vol. V, 4
- Pies, C., Yang, Y., Hofmann, T. 2007. Distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) in Floodplain Soils of The Mosel and Saar River. *Journal Soils Sediments*, Vol. 7(4):216–222.
- Pozdnyakova, N. N., Balandina S.A., Dubrovskaya E.V., Golubev, C.N., Turkovskaya, O.V., 2017. Ligninolytic basidiomycetes as promising organisms for the mycoremediation of PAH-contaminated

Environments, ESDT IOP Publishing IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science., Doi:10.1088/1755-1315/107/1/012071

Prince, R. C. 1997. Bioremediation of marine oil spills. Experiences, lessons, and results from the Exxon Valdez oil spill in Alaska, Vol. 3:315–335.

Pulungan, D. 2013. <URL:<http://wordpress.com/pengelolaan-lahan-tercemar-minyak-bumi>>. Diakses pada tanggal 11 Agustus 2018.

Prishandono D, Radiati LE, Rosyidi D. 2013. Pengaruh penambahan ekstrak picung (*Pangium edule*) dengan air dan etanol terhadap recovery *Eschericia coli* dan *Staphylococcus* sp. serta total mikrobial pada daging sapi giling. Malang: Universitas Brawijaya

Pronzato, R., Bavestrello, G., Cerrano, C., Magnino, G., Manconi, R., Pantelis, J., Sara, A., and Sidri M., 1999. Spones Farming in the Mediterranean Sea New Perspectives, *Memoir of the Queensland Museum*, Vol. 44, 485 – 491.

Rachmaniar, R. 1997. Potensi Spons Asal Kepulauan Spermonde Sebagai Antimikroba. Seminar Perikanan Indonesia II. Ujung Pandang.

Rachmaniar, R. 2003. Antikanker *Swinholide* dari Spons *Theonella swinhoei*. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*. Vol. 2 (4):1412-2855.

Rachmaniar, R. 2007. Spons Indonesia Kawasan Timur Keragaman, Distribusi, Kelimpahan, dan Kandungan Metabolit Sekundernya. *Oseanologi dan Limnologi Indonesia*. Vol. 33(1):123–138

Rachmat R. 2017. Spons Indonesia kawasan timur. *Oseanologi dan Limnologi di Indonesia*. Vol. 33: 123-38

Raden, I., Pulungan, M. S., Dahlan, M., dan Thamrin. 2010. Kajian Dampak Penambangan Batu bara Terhadap Pengembangan Sosial, Ekonomi, dan Lingkungan di Kabupaten Kutai Kartanegara. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kementerian Dalam Negeri.

Rahayu I. 2006. *Aloe barbandesii* Miller dan *Aloe chinensis* Baker sebagai antibiotik dalam pengobatan etnoveteriner unggas secara in-vitro. *Jurnal protein*. Vol. 13 (1)

Ahmad, T., E. Suryati, dan Muliani. 1995. *Screening Sponges for Bactericide To Be Use in Shrimp Culture*. Indonesian Fisheries Research Journal.

Rakesh, SU., Patil, PR., Salunkhe, VR., 2010. Free Radical Scavenging Activity Of Hydroalcoholic Extracts Of Dried Flowers Of *Nymphaea Stellata* Willd. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, Vol. 1(2),1-9.

- Rammer, L-E et al.. 2013. Two novel class II hydrophobins from *Trichoderma* stimulate enzymatic hydrolysis of poly(ethylene terephthalate) when expressed as a fusion protein. *Journal American Society of Microbiology, Applied and Environmental Microbiology*, Doi:10.1128/AEM.01132-13
- Richardson, J. 1996. *Handbook of Qualitative Research Methods for Psychology dan the Social Sciences*. Denmark: Psikologisk Institut, Aarhus Universitet.
- Rosenberg, E., dan Ron, E. Z. 2002. Surface active polymers from the genus *Acinetobacter*". In: Kaplan DL, editor. *Biopolymers from renewable resources*. Berlin: *Springer*; 281–9. 81
- Riseley, R. A., 1971, *Tropical Marine Aquaria, The Natural System*, George Allen & Unwin Ltd, Ruskin House Museum Street, London, 164 – 165.
- Rogers, C. S., Garrison G., Grober, R., Hillis Z and ranke, M. A. 1994. *Coral Reef Monitoring Manual for the Carribean and Western Atlantic*. Virgin Island National Park USVI.
- Romihmohtarto, K., dan Juwana, S., 1999, *Biologi Laut, Ilmu Pengetahuan tentang Biota Laut*, Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi-LIPI Jakarta, 115 – 128.
- Romimohtarto, K., dan Juwana, S., 2007, *Biologi Laut, Ilmu Pengetahuan Tentang Biota Laut*. Djambatan, Jakarta.
- Rosidah, Afizia W. 2012. Potensi ekstrak daun jambu biji sebagai antibakterial untuk menanggulangi serangan bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan gurame (*Osphronemus gouramy lacepede*). *Jurnal akuatika*. Vol. 3(1):p.24
- Rosmiati, Suryati, Emmed., 2001, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Bioaktif *Sponge (Callyspongia pseudoreticulata)* terhadap bakteri patogen dan udang, *Jurnal Bioteknologi Pertanian*, Vol. 6:16-21.
- Ruppert, E. E., and Barnes, R. D., 1991, *Invertebrates Zoology*, Sixth Edition, Saunders College Publishing, Philadelphia, New York, Chicago, San Fransisco, Montreal, Toronto, London, Sidney, Tokyo, 68 – 91.
- Ryan, M.J. 2007. *Novel Secondary Metabolites from New Zealand Marine Sponges*. University of Wellington, Victoria
- S. N. Singh (ed.), 2012. *Microbial Degradation of Xenobiotics*, Environmental Science and Engineering, DOI: 10.1007/978-3-642-23789-8-14. Springer-Verlag Berlin Heidelberg

- Sapar, A. dan Kumanireng, A. S., 2004, Isolasi dan Penentuan Struktur Metabolit Sekunder Aktif Dari Sponge *Biemma Triraphis* Asal Pulau Kapodasang (Kepulauan Spermonde), *Marina Chimica Acta*, Vol. 6 (1)
- Sarbini, K. 2012. Biodegradasi Pyrena Menggunakan *Bacillus Subtilis* C19. Depok: Fakultas Teknik, Program Studi Teknologi Bioproses, Departemen Teknik Kimia.
- Sayara, T., Sarra, M., dan Sanchez, A. 2009. Effect of Composting Controlling Factors on the Bioremediation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) Contaminated Soil. Palestine: Proceedings of the Second International Conference on Energy and Environmental Protection in the Sustainable Development
- Singh, A., Van Hamme, J. D., dan Ward, O. P. 2006. Surfactants in Microbiology and Biotechnology: Part 2. Application Aspects. Department of Biology, University of Waterloo; Department of Biological Sciences; Thompson Rivers University.
- Setyowati, E. P., et al., 2007. Isolasi senyawa sitotoksik spons *Kaliopsis* sp, *Majalah Farmasi Indonesia*, Vol 18 (4) 183-189
- Setyowati, E. P., Jenie, U. A., Sudarsono, Kardono, B., Rahmat, R., dan Meiyanto, E., 2007, Isolation of Cytotoxic Substance From *Kaliopsis* Spons, *Majalah Farmasi Indonesia*, Vol. 18(4):183-189.
- Setyowati, E.P., Sudarsono, Wahyuono, S., 2003, Active Fraction from Sponge *Stylissa flabelliformis* Collected from Menjangan National Park West Bali, *Journal of Technoscience*, Vol. 16:499-513.
- Setyowati, E.P., Sudarsono, Wahyuono, S., 2004, Cytotoxic and Antimicrobial Test of The Bioactive Compound Isolated from *Stylissa flabelliformis* Sponge, *Indonesian Journal of Pharmacy*, Vol. 15, 50-56
- Smith A, Robertson D, Tang M, Jackson M, MacKenzie D, Bagg J. 2003. *Staphylococcus aureus* in the oral cavity: a three-year retrospective analysis of clinical laboratory data. *British dental journal*. Vol.195(12): 701-713
- Smith AJ, Jackson MS, Bagg J. 2011. The ecology of *Staphylococcus* species in the oral cavity. *Journal Med Microbiol*. Vol. 50(11):940-946
- Soest, R. W. M., Van, and Braekman, J. C., 1999, Chemosystematics of Porifera: A Review, *Memoir of the Queensland Museum*, Vol. 44:569 - 589.
- Sorokin YI, 1993, Coral Reef Ecology, Berlin: *Springer-Verlag*, 173-182.

- Storr, 1976. *Ecological; Factors controlling sponge distribution in the gulf of Mexicomand the resulting zonation*. In F.W. Harrison and R.R. Cowden (Eds). *Aspec of sponge Biology. A Subsidiary of Harcourt Brace Jovanovich, Publishers*. Academic press. New York. San Fransisco. London.p.261-276.
- Sugiharto. 1987. *Dasar-Dasar Pengelolaan Air Limbah*. UI Press. Jakarta
- Suharyanto, 1998. *Studi Distribusi dan Persentasi Penutupan Spons Pada Kedalaman dan Kondisi Terumbu Karang yang Berbeda di Perairan Pulau Barrang Lompo*. Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin.
- Suharyanto, A. Parenrengi dan E. Suryati. 1997. *Kelimpahan Sponge Pada Kedalaman yang berbeda di Perairan Teluk Labuange Kabupaten Barru. Sulawesi Selatan*. Laporan Penelitian. Balai Penelitian Perikanan Pantai, Maros. 10 hal.
- Suharyanto. 2008. Distribusi dan Persentase Tutupan Sponge (Porifera) pada Kondisi Terumbu karang dan Kedalaman yang Berbeda di perairan Pulau Barranglompo, Sulawesi Selatan. *Biodiversitas* Vol. 9:2009-2012.
- Suparno, et al., 2009, Transplantasi spons laut *Petrosia nigricans*, *Jurnal Ilmu Kelautan*, Vol 14 (4): 234-241
- Suratmo, 2009, Potensi Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*) Sebagai Antioksidan, (Online) ([http://fisika.ub.ac.id/bssub/PDF%20FILES/BSS_205_1. pdf](http://fisika.ub.ac.id/bssub/PDF%20FILES/BSS_205_1.pdf)), diakses pada tanggal 12 Februari 2018.
- Suriawiria, U. 2002. Pupuk Organik Kompos dari Sampah, Bioteknologi Agroindustri. Bandung: Humaniora Utama Press.
- Van-Hamme J. D., Singh, A., dan Ward, O. P. 2003. Recent advances in petroleum microbiology. *Journal Microbiol Mol Biol Rev*, Vol. 67:503–549.
- Sutedja, L., Udin, L. Z., dan Manupputy, A., 2005, *Antimicrobial Activity of the Spons Petrosia contignata Thiele*, Sistem Informasi Dokumen Kegiatan Pusat Penelitian Kimia LIPI, Bandung.
- Tomascik, T., A.J. Mah, A. Nontji, and M. K. Moosa, 1997. *The Ecology of the Indonesia Seas. Part One. The Ecology of Indonesian Series Vol. VII*. Periplus Edition (HK) Ltd.
- Trilaksani, W., 2003, Antioksidan: Jenis, Sumber, Mekanisme Kerja Dan Peran Terhadap Kesehatan, Bogor, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.

- United States Environmental Protection Agency (EPA). Washington, DC. 2017. The National Water Quality Inventory: Report to Congress for the 2002 Reporting Cycle – A Profile. Fact Sheet No. EPA 841-F-07-003.
- Urooj, Zafar.. 2013. Biodegradation of polyurethane under composting conditions. (Thesis), Manchester, UK: The University of Manchester.
- Usman, H., Hakim, E. H., Achmad, S.A., Syah, Y. M., Harlim, T., Jalaluddin, M. N. 2005. *Jurnal Matemaika dan Sains ITB*. Vol. 10(3):97-100.
- Voogd, N. J., De., and Van Soest, R. W. M., 2002, *Indonesian Sponss of the Genus Petrosia*, Zool. Med. Leidan 76.
- Wang, R., Liu, G., Chou, C. L., Liu, J., dan Zhang, J. 2010. Environmental Assessment of PAH in Soils Around The Anhui Coal District China. *Archives of environmental contamination dan toxicology*, Vol. 59(1):62-70.
- Warren, L., 1982, *Encyclopedia of Marine Invertebrates*, Di dalam: Walls JG (ed.), 15 – 28.
- Wilson, S. C., dan Jones, K. C. 1992. “Bioremediation of soil contaminated with Polynuclear Aromatic Hydrocarbons (PAH)”. A review. *Environ. Pollut*, Vol. 81:229–249.
- Yao, C., Zhao, S., Wang, Y., Wang, B., Wei, M., dan Hu, M. 2013. “Microbial desulfurization of waste latex rubber with Alicyclobacillus sp”. *Journal Polym Degrad Stab* Vol. 98(9):1724e30.
- Zhang, D., dan Zhu, L. 2012. Effect of Tween 80 on the removal, sorption, and biodegradation of pyrene by *Klesiella oxytoca* PYR-1. Department of Environmental Science, Zhejiang University; Zhejiang Key 82 Laboratory of Organic *Pollution Process dan Control*, 164:169-174.
- Zhang, Y., Zhu, Y. G., Houot, S., Qiao, M., Nunan, N., dan Garnier, P. 2011. Remediation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) contaminated soil through composting with fresh organic wastes. *Environmentalscience dan pollution research international*, Vol.18(9):1574-1584
- Zulaika, A., Taniwiryono, D, dan Hidayat, Y.S.. 2012. Penetapan beberapa isolat *Trichoderma* sebagai mikroba endofit. Jakarta. University al-azhar Indonesia
- Pencemaran menurut SK Menteri Kependudukan Lingkungan Hidup No 02/MENKLH/1988.

- Peraturan Menteri lingkungan Hidup No.03 Tahun 2010 tentang Baku Mutu Air Limbah bagi Kawasan Industri. Kementrian Lingkungan Hidup Republik Indonesia.
- Konvensi PPB 1958, tentang Pencemaran Laut pada Laut Lepas
- Konvensi Hukum Laut 1982, Dalam hukum nasional
- UU Nomor 23/1997 tentang Pengelolaan Lingkungan Hidup
- UU Nomor 17/2008 tentang Pelayaran
- Peraturan Pemerintah (PP) Nomor 19/1999 tentang Pengendalian Pencemaran dan atau Perusakan Laut,
- Peraturan Presiden Nomor 109/2006, tentang Penanggulangan Keadaan Darurat Tumpahan Minyak di Laut.
- Peraturan Pemerintah RI Nomor 20/1990 tentang Pengendalian Pencemaran Air.

Ucapan Terima Kasih:

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Direktur Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan Kemenristek Dikti RI atas pembiayaan penulisan buku ini dengan judul: APLIKASI MIKROSIMBION SPONS DALAM BIOREMEDIASI LINGKUNGAN, melalui skema Penelitian 2017-2019.

LAMPIRAN-LAMPIRAN

Lampiran 1.1: Morfologi Spons *Callyspongia sp*

Morfologi Spons *Callyspongia sp.* (Duchassaing & Michelotti, 1864) –
Callyspongiidae
Asal Pantai Melawai Balikpapan Kalimantan Timur,
Wil. Administratif Kota Balikpapan

GROWTH FORM Massive, the oscula scattered along the surface of the sponge body

COLOUR in EtOH

TEXTURE Compressible
SURFACE STRUCTURE Smooth, sticky surface

MEGASCLERES Tangential axea, various size
 MICROCLERES No microcleres
 SPICULA ABUNDANCE Relatively low

SKELETON Confused type (no certain pattern), contain spongin
 The skeleton can be easily divided into primary (no.1) and secondary (no.2) fibers (type: isodictyal skeleton)
 The skeleton composed from several spikula (type: puni-pauci splkular)

Morfologi *Spons Callyspongia* sp. (Duchassaing & Michelotti, 1864) –
 Callyspongiidae
 Asal Pantai Kodingaren Keke, Gugusan Kepulauan Spermonde,
 Wil. Administratif Kota Makassar,

Fig 1. **GROWTH FORM** Orange-colored sponge. Compressible in the water

Fig 2. **CONSISTENCY** Brittle and crumbly when it dried up

Fig 3. **OSCULE** Round oscule spread over the body

Fig 4. **CHOANOSOME** Cross-section of the body, hollow-area allegedly a choanocyte chamber.

Fig 5. **SKELETON** High density of fiber and unispicular skeleton

Fig 6. **SPICULE** Abundant uniform-size oxea

Lampiran 2: Genomik Bakteri Simbion Spons *Callyspongia sp*

Isolat 1, Kode Sampel Sp 5 (*Callyspongia Sp*)

Bacillus subtilis strain BAB-1684 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

Sequence ID: [gb|KF535143.1|](#) Length: 1475 Number of Matches: 1

Related Information

Graphic Summary

Distribution of 102 Blast Hits on the Query Sequence

Range 1: 554 to 1461 GenBankGraphics Next Match Previous Match

Alignment statistics for match #1

	Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	
	1138 bits(616)	0.0	817/913(89%)	18/913(1%)	Plus/Plus	
Query	17		GCCTAAGGGGCTCCAGGCGGTTTACTAAGTCTGATGTGAA--TCCCGGGCT-AACCGGG			73
Sbjct	554		GCCTAAGGGGCTCCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGG			613
Query	74		GAGGGTCATTGGAACTGGGGAACCTGAGTGCTGAAGAGGAGAGTGGAAATTCACGTGTA			133
Sbjct	614		GAGGGTCATTGGAACTGGGGAACCTGAGTGCGAGAAGAGGAGTGGAAATTCACGTGTA			673
Query	134		GCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGT			193
Sbjct	674		GCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGT			733
Query	194		AACTGACGCTCAGGAGCGAAAGCGTGGGAGCGAAGAGGATTAGATACCCCTGGTAGTCCA			253
Sbjct	734		AACTGACGCTCAGGAGCGAAAGCGTGGGAGCGAAGAGGATTAGATACCCCTGGTAGTCCA			793
Query	254		CGCGTAAACGATGACTGCTAGGTGGTAGGGGGTTTCCGCCCGCTATTGCTGCCCTAAC			313
Sbjct	794		CGCGTAAACGATGACTGCTAGGTGGTAGGGGGTTTCCGCCCGCTATTGCTGCCCTAAC			853
Query	314		GCATTAACTACTCCGCGGGGAGTCCGGCCCCAGGACTAAACCTCAATGGATTGACGG			373
Sbjct	854		GCATTAACTACTCCGCTGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGG			913
Query	374		GGGCCCCGACAAACCGGGGAACCAAGTGGTTAATTCATACCACCGCAAAAACCTTACCA			433
Sbjct	914		GGGCCCCGACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGAAGCAACCGCAAAAACCTTACCG			973
Query	434		CGCTGGACTTCCTCTGACTATCCTAAAAATCTTACGTCGCCCTTGGGAGGTATAATGACA			493
Sbjct	974		GGTCTTGACATCCTCTGACAAATCCTAAAGATAGGAGTCCCGCTCGGGGGCAGAGTGACA			1033
Query	494		GGTGGTGCAGGGTGTGCGCAGCTCGGGTCTTGAGAGGTTGGTTAATTCGCCACCAAG			553
Sbjct	1034		GGTGGTGCATGGTGTGCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAG			1093
Query	554		CGCACCCCTTGATCTTATTGCGAGCATTAGTTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGA			613
Sbjct	1094		CGCAACCCCTTGATCTTATTGCGAGCATTAGTTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGA			1153
Query	614		CTAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACA			673
Sbjct	1154		CAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACA			1213
Query	674		CACGTGCTACAATGGACATAACAAAGGGCAGCGACCCCGGAGATTAAAGCCAATCCCACT			733
Sbjct	1214		CACGTGCTACAATGGACAGAACAAAGGGCAGCGAAACCGGAGGTTAAGCCAATCCCACT			1273
Query	734		AATCTAGTTCTCTATTCCGGATCTGAATCCTGCAACTCGACCGCATGAA-CTCGGAATC			792
Sbjct	1274		AATCT-GTTCTCAGTTC-GGATCGCAGT-CTGCAACTCGACTGCG-TGAAGCT-GGAATC			1328
Query	793		GCTAGTAATCGCGATCAGCATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGT-CACACCGC			851
Sbjct	1329		GCTAGTAATCGCGATCAGCATGCGCGGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGC			1388
Query	852		CCGTC-CACCATGAGAGTT-GTATCACCAGA-GTCGGT-AGGTA-CCITCTAG-AGCC-G			904
Sbjct	1389		CCGTCACACCACGAGAGTTTGTAAACCCGAAGTCGGTGAAGTAACCTTTTAGGAGCCAG			1448
Query	905		CTACC-AATGTGG 916			
Sbjct	1449		CCGCCGAATGTGG 1461			

Isolat 2, Kode Sampel Sp 5 (Callyspongia Sp)
Bacillus flexus strain PHCDB20 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
Sequence ID: [gb|KF417548.1|](#)Length: 986Number of Matches: 1
[See 1 more title\(s\)](#)
Related Information

Graphic Summary

Range 1: 19 to 968 [GenBankGraphics](#) Next Match Previous Match

Alignment statistics for match #1

	Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	
	1733 bits(938)	0.0	948/952(99%)	3/952(0%)	Plus/Plus	
Query	10		TATTGAGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTTCTTAAAGTCTGATGTGAAAAGCCACGGCTCAA			69
Sbjct	19		TATTGAGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTTCTTAAAGTCTGATGTGAAAAGCCACGGCTCAA			78
Query	70		CCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGAACCTTGAGTGCAGAAGAGAAAAGCGGAATTCAC			129
Sbjct	79		CCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGAACCTTGAGTGCAGAAGAGAAAAGCGGAATTCAC			138
Query	130		GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTTTTGG			189
Sbjct	139		GTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTTTTGG			198
Query	190		TCTGTAACTGACGCTGAGGCGCGAAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCGTGSTA			249
Sbjct	199		TCTGTAACTGACGCTGAGGCGCGAAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCGTGSTA			258
Query	250		GTCCACGCCGTAAACGATGAGTGTCTAAAGTGTAGAGGGTTTCCGCCCTTTAGTGCTGCAG			309
Sbjct	259		GTCCACGCCGTAAACGATGAGTGTCTAAAGTGTAGAGGGTTTCCGCCCTTTAGTGCTGCAG			318
Query	310		CTAACGCATTAAAGCACTCCGCCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATT			369
Sbjct	319		CTAACGCATTAAAGCACTCCGCCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATT			378
Query	370		GACGGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGTTTAAATCGAAGCAACGCGAAGAACCT			429
Sbjct	379		GACGGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGTTTAAATCGAAGCAACGCGAAGAACCT			438
Query	430		TACCAAGTCTTGACATCTCTGACAACTCTAGAGATAGAGCGTTCCCTTCGGGGGACAG			489
Sbjct	439		TACCAAGTCTTGACATCTCTGACAACTCTAGAGATAGAGCGTTCCCTTCGGGGGACAG			498
Query	490		AGTGACAGGTGGTGATGGTTGTCTGCTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCG			549
Sbjct	499		AGTGACAGGTGGTGATGGTTGTCTGCTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCG			558
Query	550		CAACGAGCGCAACCCCTTGATCTTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAAGGTGACTG			609
Sbjct	559		CAACGAGCGCAACCCCTTGATCTTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAAGGTGACTG			618
Query	610		CCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTTATGACCTG			669
Sbjct	619		CCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTTATGACCTG			678
Query	670		GGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAAAGGGCTGCAAGACCGCGAGGTCAAGCCAA			729
Sbjct	679		GGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAAAGGGCTGCAAGACCGCGAGGTCAAGCCAA			738
Query	730		TCCCATAAAAACATTCTCAGTTCGGATTGTAAGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCTGGAA			789
Sbjct	739		TCCCATAAAAACATTCTCAGTTCGGATTGTAAGCTGCAACTCGCCTACATGAAGCTGGAA			798
Query	790		TCGCTAGTAAATCGCGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCC-GGGCCTTGACACAC			848
Sbjct	799		TCGCTAGTAAATCGCGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCC-GGGCCTTGACACAC			858
Query	849		CGCCCGTCACACCACGAGAGTTTGTAAACCCGGAAGTCGGTGGGGTAACTTTATGGAGC			908
Sbjct	859		CGCCCGTCACACCACGAGAGTTTGTAAACCCGGAAGTCGGTGGGGTAACTTTATGGAGC			918
Query	909		CAGCCCGCTAAGGTGGGACAGATGATTGGGGTGAAGTCGTACAGGGGSAACC			960
Sbjct	919		CAGCCCGCTAAGGTGGGACAGATGATTGGGGTGAA-TC-TACAGGGGSAACC			968

Lampiran 3.1: Absorban suspensi Media Degradasi

ABSORBANSI SUSPENSİ MEDIA DEGRADASI BERDASARKAN WAKTU KONTAK (HARI) PERLAKUAN 1

Hari	BS Strain BAB-1684		BF Strain PHCDB20		BSF		MB Spons <i>Callispongia</i> sp		Bakteri Murni KP	
0	0,065	0,0665	0,021	0,0225	0,041	0,0425	0,068	0,0750	0,098	0,0950
	0,068		0,024		0,044		0,082		0,092	
5	0,084	0,0855	0,224	0,2220	0,115	0,1175	0,145	0,1470	0,177	0,1790
	0,087		0,220		0,120		0,149		0,181	
10	0,139	0,1400	0,298	0,3045	0,284	0,2790	0,231	0,2345	0,149	0,1455
	0,141		0,311		0,274		0,238		0,142	
15	0,305	0,3085	0,564	0,5660	0,378	0,3760	0,382	0,3855	0,375	0,3780
	0,312		0,568		0,374		0,389		0,381	
20	0,456	0,4535	0,578	0,5870	0,558	0,5600	0,418	0,4150	0,411	0,4195
	0,451		0,596		0,562		0,412		0,428	
25	0,512	0,5135	0,612	0,6140	0,588	0,5855	0,433	0,4405	0,474	0,4715
	0,515		0,616		0,583		0,448		0,469	
30	0,582	0,5795	0,672	0,6745	0,602	0,6045	0,463	0,4660	0,485	0,4870
	0,577		0,677		0,607		0,469		0,489	
35	0,662	0,6635	0,681	0,6835	0,665	0,6720	0,484	0,4844	0,516	0,5190
	0,665		0,686		0,679		0,485		0,522	

Lampiran 3.2: Absorban suspensi Media Degradasi

ABSORBANSI SUSPENSİ MEDIA DEGRADASI BERDASARKAN WAKTU KONTAK (HARI) PERLAKUAN 2

Hari	BS Strain BAB-1684		BF Strain PHCDB20		BSF		MB Spons <i>Callispongia</i> sp		Bakteri Murni KP	
0	0,061	0,0615	0,031	0,0375	0,041	0,0410	0,058	0,0550	0,098	0,0950
	0,062		0,044		0,041		0,052		0,092	
5	0,081	0,0780	0,214	0,2125	0,125	0,1255	0,115	0,1170	0,157	0,1540
	0,075		0,211		0,126		0,119		0,151	
10	0,111	0,1225	0,287	0,3395	0,256	0,2570	0,201	0,2045	0,178	0,1780
	0,134		0,392		0,258		0,208		0,178	
15	0,287	0,2925	0,521	0,5220	0,367	0,3680	0,352	0,3555	0,278	0,2825
	0,298		0,523		0,369		0,359		0,287	
20	0,398	0,4005	0,578	0,5835	0,532	0,5335	0,398	0,3900	0,394	0,3915
	0,403		0,589		0,535		0,382		0,389	
25	0,474	0,4775	0,609	0,6085	0,578	0,5765	0,413	0,4155	0,454	0,4605
	0,481		0,608		0,575		0,418		0,467	
30	0,532	0,5335	0,665	0,6720	0,612	0,6135	0,446	0,4460	0,478	0,4850
	0,535		0,679		0,615		0,446		0,492	
35	0,601	0,6025	0,676	0,6755	0,646	0,6475	0,481	0,4815	0,511	0,5115
	0,604		0,675		0,649		0,482		0,512	

Lampiran 3.3: Absorban suspensi Media Degradasi

ABSORBANSI SUSPENSİ MEDIA DEGRADASI BERDASARKAN WAKTU KONTAK (HARI) PERLAKUAN 3

Hari	BS Strain BAB-1684		BF Strain PHCDB20		BSF		MB Spons <i>Callyspongia</i> sp		Bakteri Murni KP	
0	0,051	0,0515	0,035	0,0385	0,051	0,0495	0,048	0,0500	0,098	0,0950
	0,052		0,042		0,048		0,052		0,092	
5	0,083	0,0810	0,124	0,1325	0,124	0,1235	0,125	0,1270	0,157	0,1540
	0,079		0,141		0,123		0,129		0,151	
10	0,121	0,1260	0,287	0,2895	0,223	0,2285	0,178	0,1825	0,168	0,1680
	0,131		0,292		0,234		0,187		0,168	
15	0,277	0,2780	0,421	0,4220	0,356	0,3550	0,252	0,2555	0,278	0,2725
	0,279		0,423		0,354		0,259		0,267	
20	0,346	0,3500	0,568	0,5705	0,489	0,4890	0,323	0,3275	0,354	0,3715
	0,354		0,573		0,489		0,332		0,389	
25	0,434	0,4350	0,612	0,6175	0,521	0,5265	0,367	0,3670	0,424	0,4255
	0,436		0,623		0,532		0,367		0,427	
30	0,501	0,5030	0,645	0,6505	0,578	0,5780	0,402	0,4030	0,468	0,4600
	0,505		0,656		0,578		0,404		0,452	
35	0,543	0,5450	0,671	0,6715	0,623	0,6285	0,482	0,4805	0,489	0,4890
	0,547		0,672		0,634		0,479		0,489	

Lampiran 3.4: Absorban suspensi Media Degradasi

ABSORBANSI SUSPENSİ MEDIA DEGRADASI BERDASARKAN WAKTU KONTAK (HARI) PERLAKUAN 4

Hari	BS Strain BAB-1684		BF Strain PHCDB20		BSF		MB Spons <i>Callyspongia</i> sp		Bakteri Murni KP	
0	0,041	0,0415	0,035	0,0385	0,061	0,0595	0,048	0,0500	0,098	0,0950
	0,042		0,042		0,058		0,052		0,092	
5	0,073	0,0745	0,134	0,1325	0,134	0,1385	0,125	0,1270	0,147	0,1440
	0,076		0,131		0,143		0,129		0,141	
10	0,111	0,1115	0,277	0,2775	0,233	0,2335	0,178	0,1825	0,168	0,1630
	0,112		0,278		0,234		0,187		0,158	
15	0,245	0,2455	0,434	0,4385	0,367	0,3660	0,252	0,2520	0,258	0,2625
	0,246		0,443		0,365		0,252		0,267	
20	0,301	0,3030	0,536	0,5450	0,456	0,4605	0,356	0,3505	0,344	0,3445
	0,305		0,554		0,465		0,345		0,345	
25	0,378	0,3770	0,632	0,6375	0,521	0,5260	0,387	0,3855	0,412	0,4165
	0,376		0,643		0,531		0,384		0,421	
30	0,457	0,4665	0,641	0,6430	0,587	0,5825	0,415	0,4180	0,465	0,4620
	0,476		0,645		0,578		0,421		0,459	
35	0,521	0,5265	0,654	0,6515	0,643	0,6440	0,462	0,4655	0,484	0,4845
	0,532		0,649		0,645		0,469		0,485	

Lampiran 4: Hasil Pengukuran pH Media Degradasi pada Biodegradasi SMB berturut-turut untuk Perlakuan 2, 3 dan 4

Media degradasi	Waktu kontak (hari)							
	0	5	10	15	20	25	30	35
Suspensi BS	7	7	6	6	6	6	7	7
Suspensi BF	7	6	5	5	5	5	5	6
Suspensi BSF	7	7	6	6	6	6	7	7
Suspensi BM	7	7	7	6	5	6	7	7
Suspensi KP	7	7	7	7	7	7	7	7

Perlakuan 2

Media degradasi	Waktu kontak (hari)							
	0	5	10	15	20	25	30	35
Suspensi BS	7	6	6	6	6	6	6	6
Suspensi BF	7	6	6	6	6	6	6	6
Suspensi BSF	7	7	6	6	6	6	6	6
Suspensi BM	7	7	6	6	6	7	7	7
Suspensi KP	7	7	7	6	6	7	7	7

Perlakuan 3

Media degradasi	Waktu kontak (hari)							
	0	5	10	15	20	25	30	35
Suspensi BS	7	7	7	7	7	7	7	7
Suspensi BF	7	6	6	6	6	6	6	6
Suspensi BSF	7	7	7	6	6	6	7	7
Suspensi BM	7	7	6	6	6	7	7	7
Suspensi KP	7	7	6	6	6	6	7	7

Perlakuan 4

Lampiran 5.1: Jenis Komponen Hidrokarbon dan Waktu Retensi sebelum Kontak pada Limbah *Sludge* Minyak Bumi

Komponen Hidrokarbon limbah SMB sebelum kontak (Konsentrasi awal) dengan suspensi mikrosimbion dan biomassa spons *Cellulosporgia* sp

No. urut	No. Puncak	W. Retensi (Menit)	Nama Senyawa	Rumus Molekul	Luas Puncak (%)
1	1	6,639	Dekana	C ₁₀ H ₂₂	2,741
2	2	8,395	Undekana	C ₁₁ H ₂₄	3,464
3	3	10,752	Dodekana	C ₁₂ H ₂₆	3,490
4	4	12,544	Tridekana	C ₁₃ H ₂₈	4,403
5	5	13,759	Tetradekana	C ₁₄ H ₃₀	4,209
6	6	14,189	2,7-dimetil-1 Naphthalena*	C ₁₂ H ₁₈	1,748
7	9	18,083	Pentadekana	C ₁₅ H ₃₂	5,692
8	10	16,259	Heksadekana	C ₁₆ H ₃₄	4,929
9	13	17,281	Azidena*	C ₁₂ H ₁₂	1,280
10	14	17,590	Heptadekana	C ₁₇ H ₃₆	4,768
11	16	18,463	Oktaadekana	C ₁₈ H ₃₈	4,452
12	19	19,479	Nonadekana	C ₁₉ H ₄₀	4,334
13	20	20,455	Eikosa	C ₂₀ H ₄₂	4,354
14	21	21,381	Hentakosana	C ₂₁ H ₄₄	4,297
15	22	22,274	Dokosana	C ₂₂ H ₄₆	4,391
16	23	23,128	Triakosana	C ₂₃ H ₄₈	4,499
17	24	23,945	Tettrakosana	C ₂₄ H ₅₀	4,751
18	26	24,732	Pentakosana	C ₂₅ H ₅₂	4,890
19	27	25,493	Heksakosana	C ₂₆ H ₅₄	4,794
20	28	26,226	Oktaekosana	C ₂₇ H ₅₆	5,105
21	31	27,619	Nonakosana	C ₂₉ H ₆₀	3,617
22	33	28,282	Triakontana	C ₃₀ H ₆₂	2,937
Total Hidrokarbon (TH) berdasarkan luas puncak kimiripan 91 % ≤					59,007
Total Hidrokarbon (TH) berdasarkan luas puncak kimiripan 91 % >					16,993
Jumlah luas puncak Hidrokarbon Alikatik (HAl)					55,979
Jumlah luas puncak Hidrokarbon Aromatik (HAr)					1,028
Perbandingan HAl : HAr					26,395 : 1

Lampiran 5.2: Jenis Komponen Hidrokarbon dan Waktu Retensi pada Limbah *Sludge* Minyak Bumi Setelah Kontak dengan *Bacillus Subtilis* Strain BAB-1654

Komponen hidrokarbon dalam limbah SMTB setelah kontak dengan suspensi BS strain BAB-1654 berdasarkan perlakuan

No. urut	W. Retensi (Menit)	Nama Senyawa	Rumus Molekul	Stl kontak	Persen Komp. 35 hari kontak			
					Perl. 1	Perl. 2	Perl. 3	Perl. 4
1	6,639	Dekana	C ₁₀ H ₂₂	2,741	1,981	2,132	2,714	2,714
2	8,895	Undekana	C ₁₁ H ₂₄	3,464	2,178	2,289	2,581	2,498
3	10,752	Dodekana	C ₁₂ H ₂₆	3,490	2,910	3,059	3,128	3,213
4	12,544	Tridekana	C ₁₃ H ₂₈	4,403	3,536	3,705	3,940	4,068
5	13,759	Tetradekana	C ₁₄ H ₃₀	4,200	3,536	3,641	3,768	3,935
6	14,189	2,7-dimethyl Naphthalena*	C ₁₀ H ₁₂	1,746	1,336	1,418	1,396	1,423
7	15,053	Pentadekana	C ₁₅ H ₃₂	5,692	4,718	4,921	5,124	5,198
8	16,259	Hexadekana	C ₁₆ H ₃₄	4,920	4,075	4,112	4,176	4,236
9	17,281	1,4-dimethyl Azulena*	C ₁₅ H ₁₂	1,280	0,916	0,976	1,032	1,097
10	17,990	Heptadekana	C ₁₇ H ₃₆	4,768	4,156	4,126	4,179	4,234
11	18,463	Oktaadekana	C ₁₈ H ₃₈	4,452	3,942	4,085	4,165	4,296
12	19,479	Nonadekana	C ₁₉ H ₄₀	4,334	3,776	3,893	3,984	4,062
13	20,435	Dikosa	C ₂₀ H ₄₂	4,254	3,752	3,867	3,934	4,123
14	21,381	Ikosaosana	C ₂₀ H ₄₂	4,297	3,820	3,973	4,112	4,187
15	22,274	Dokosana	C ₂₂ H ₄₆	4,391	3,899	4,026	4,105	4,198
16	23,128	Trikosana	C ₂₃ H ₄₈	4,499	4,056	4,124	4,223	4,312
17	23,945	Tetradokosana	C ₂₄ H ₅₀	4,751	4,202	4,261	4,370	4,403
18	24,732	Pentadokosana	C ₂₅ H ₅₂	4,880	4,432	4,562	4,586	4,612
19	25,493	Hexadokosana	C ₂₆ H ₅₄	4,794	4,409	4,640	4,772	4,799
20	26,226	Oktaheksana	C ₂₇ H ₅₆	5,105	4,612	4,735	4,821	4,896
21	27,619	Nonakosana	C ₂₉ H ₆₀	3,607	3,201	3,237	3,310	3,349
22	28,282	Triakontana	C ₃₀ H ₆₂	2,937	1,979	2,115	2,203	2,243
Total luas puncak (%)				88,887	75,419	77,897	80,420	82,100
Jumlah perubahan TH (%)				-	13,588	11,110	13,098	6,907
Persen perubahan TH setelah kontak				-	15,266	14,731	16,815	8,589
Jumlah luas puncak Hidrokarbon Alikatik (HAl)				-	73,167	75,503	77,982	79,588
Jumlah luas puncak Hidrokarbon Aromatik (BAr)				-	2,252	2,394	2,438	2,512

Lampiran 5.3 Jenis Komponen Hidrokarbon dan Waktu Retensi pada Limbah *Sludge* Minyak Bumi Setelah Kontak dengan *Bacillus Flexus* strain PHCDB20

Komponen hidrokarbon dalam limbah SMB setelah kontak dengan suspensi *Bacillus Flexus* strain PHCDB20 berdasarkan pertakuan

No. urut	W. Retensi (Menit)	Nama Senyawa	Rumus Molekul	Sbt kontak	Persen Komp. 35 hari kontak			
					Perl. 1	Perl. 2	Perl. 3	Perl. 4
1	6,639	Dekana	C ₁₀ H ₂₂	2,741	1,561	2,030	2,210	1,787
2	8,895	Undekana	C ₁₁ H ₂₄	3,464	2,106	2,309	2,444	2,796
3	10,782	Dodekana	C ₁₂ H ₂₆	3,490	2,748	2,959	3,025	3,087
4	12,344	Tridekana	C ₁₃ H ₂₈	4,403	3,194	3,305	3,540	3,612
5	13,759	Tetradekana	C ₁₄ H ₃₀	4,200	3,167	3,641	3,779	3,603
6	14,189	2,7-dimethyl Naphthalena*	C ₁₀ H ₁₂	1,746	1,172	1,316	1,279	1,562
7	15,053	Pentadekana	C ₁₅ H ₃₂	5,692	4,451	4,552	4,724	4,697
8	16,259	Heksadekana	C ₁₆ H ₃₄	4,920	3,571	4,066	4,124	4,209
9	17,281	Azulena*	C ₁₀ H ₈	1,200	0,812	0,846	0,720	1,043
10	17,390	Heptadekana	C ₁₇ H ₃₆	4,766	3,637	4,094	4,259	4,123
11	18,463	Oktaadekana	C ₁₈ H ₃₈	4,452	3,795	4,085	4,165	4,023
12	19,679	Nonadekana	C ₁₉ H ₄₀	4,534	3,612	4,123	4,262	4,121
13	20,455	Eikosaen	C ₂₀ H ₄₂	4,254	3,766	3,962	4,047	4,089
14	21,381	Henokoson	C ₂₁ H ₄₄	4,297	3,778	3,967	4,101	3,997
15	22,274	Dokosan	C ₂₂ H ₄₆	4,591	3,901	4,213	4,305	4,123
16	23,128	Trikosan	C ₂₃ H ₄₈	4,499	4,006	4,260	4,325	4,167
17	23,945	Tetrasilosan	C ₂₄ H ₅₀	4,751	4,206	4,581	4,670	4,293
18	24,732	Pentakosan	C ₂₅ H ₅₂	4,880	4,320	4,601	4,756	4,497
19	25,493	Heksakosan	C ₂₆ H ₅₄	4,794	4,211	4,440	4,572	4,657
20	26,226	Oktaikoson	C ₂₇ H ₅₆	5,105	4,316	4,535	4,921	3,914
21	27,619	Nonakoson	C ₂₈ H ₅₈	3,607	3,165	3,437	3,490	3,994
22	28,282	Triakoson	C ₃₀ H ₆₂	2,937	2,812	2,235	2,333	2,367
Total luas puncak (%)				89,867	72,549	77,977	80,079	78,163
Jumlah perubahan TH (%)				-	16,658	11,030	13,098	10,844
Persen perubahan TH setelah kontak				-	18,715	15,246	16,797	13,542
Jumlah luas puncak Hidrokarbon Alifatik (HAI)				-	70,365	75,815	78,080	75,558
Jumlah luas puncak Hidrokarbon Aromatik (HAr)				-	1,984	2,162	1,999	2,605

Lampiran 5.4: Jenis Komponen Hidrokarbon dan Waktu Retensi pada Limbah *Sludge* Minyak Bumi Setelah Kontak dengan Campuran Bakteri simbiosis BS Strain BAB-1654 + BF Strain PHCDB20

Komponen hidrokarbon dalam limbah SMI setelah kontak dengan suspensi BSF berdasarkan perlakuan

No. urut	W. Retensi (Menit)	Nama Senyawa	Rumus Molekul	SHI kontak	Persen Komp. 35 hari kontak			
					Perl. 1	Perl. 2	Perl. 3	Perl. 4
1	6,679	Dekana	$C_{10}H_{22}$	2,741	1,561	1,698	1,810	1,987
2	8,895	Undekana	$C_{11}H_{24}$	3,464	2,106	2,319	2,444	2,603
3	10,752	Dodekana	$C_{12}H_{26}$	3,490	2,748	2,959	3,025	3,187
4	12,344	Tridekana	$C_{13}H_{28}$	4,403	3,194	3,235	3,540	3,612
5	13,759	Tetradekana	$C_{14}H_{30}$	4,200	3,167	3,341	3,579	3,603
6	14,189	2,7-dimethyl Naphthalena*	$C_{10}H_{12}$	1,748	1,172	1,216	1,279	1,362
7	15,053	Pentadekana	$C_{15}H_{32}$	5,692	4,451	4,552	4,724	4,897
8	16,259	Hexadekana	$C_{16}H_{34}$	4,920	3,571	3,766	3,924	4,089
9	17,281	Azulena*	$C_{18}H_{12}$	1,280	0,812	0,846	0,882	0,909
10	17,390	Heptadekana	$C_{17}H_{36}$	4,768	3,677	3,794	3,959	4,123
11	18,463	Oktaadekana	$C_{18}H_{38}$	4,452	3,795	3,985	4,085	4,123
12	19,479	Nonadekana	$C_{19}H_{40}$	4,334	3,612	3,823	4,062	4,121
13	20,455	Eikosa	$C_{20}H_{42}$	4,254	3,766	3,882	3,947	4,089
14	21,381	Henrikosa	$C_{21}H_{44}$	4,297	3,678	3,887	3,981	3,999
15	22,274	Dokosa	$C_{22}H_{46}$	4,391	3,901	4,013	4,105	4,123
16	23,128	Trikosa	$C_{23}H_{48}$	4,499	4,006	4,163	4,223	4,287
17	23,945	Tetrakosa	$C_{24}H_{50}$	4,751	4,206	4,281	4,370	4,343
18	24,732	Pentakosa	$C_{25}H_{52}$	4,880	4,320	4,361	4,386	3,457
19	25,493	Heksakosa	$C_{26}H_{54}$	4,794	4,211	4,240	4,372	4,427
20	26,226	Oktaekosa	$C_{27}H_{56}$	5,105	4,316	4,435	4,521	4,614
21	27,619	Nonakosa	$C_{28}H_{58}$	3,607	3,165	3,237	3,390	3,412
22	28,382	Trakontana	$C_{30}H_{62}$	2,937	2,112	2,235	2,333	2,417
Total luas puncak (%)				89,807	71,549	74,338	76,941	77,939
Jumlah perubahan TH (%)				-	17,458	14,669	13,098	11,848
Persen perubahan TH setelah kontak				-	19,614	20,502	17,620	14,339
Jumlah luas puncak Hidrokarbon Alikatik (HAA)				-	69,565	72,276	74,780	75,608
Jumlah luas puncak Hidrokarbon Aromatik (HAR)				-	1,984	2,062	2,161	2,331

Lampiran 5.5: Jenis Komponen Hidrokarbon dan Waktu Retensi pada Limbah *Sludge* Minyak Bumi Setelah Kontak dengan Biomassa spons *Callispongia* sp

Komponen hidrokarbon dalam limbah SMIB setelah kontak dengan spongi Biomassa *Callispongia* sp berdasarkan pertukaran

No. urut	W. Retensi (Menit)	Nama Senyawa	Rumus Molekul	Sbl kontak	Persen Komp. 35 hari kontak			
					Perl. 1	Perl. 2	Perl. 3	Perl. 4
1	6,639	Dekana	C ₁₀ H ₂₂	2,741	2,310	2,316	2,328	2,387
2	8,895	Undekana	C ₁₁ H ₂₄	3,464	2,744	2,841	2,964	2,998
3	10,752	Dodekana	C ₁₂ H ₂₆	3,490	3,030	3,052	3,096	3,117
4	12,344	Tridekana	C ₁₃ H ₂₈	4,403	3,410	3,521	3,535	3,587
5	13,759	Tetradekana	C ₁₄ H ₃₀	4,200	3,679	3,775	3,787	3,803
6	14,189	2,7-dimethyl Naphthalena*	C ₁₂ H ₁₂	1,746	1,546	1,677	1,698	1,687
7	15,053	Pentadekana	C ₁₅ H ₃₂	5,692	4,704	4,721	4,787	4,797
8	16,259	Hexadekana	C ₁₆ H ₃₄	4,920	4,324	4,334	4,367	4,389
9	17,281	Azidena*	C ₁₀ H ₁₂	1,280	1,279	1,278	1,278	1,287
10	17,390	Heptadekana	C ₁₇ H ₃₆	4,766	4,259	4,365	4,376	4,423
11	18,463	Oktaadekana	C ₁₈ H ₃₈	4,452	4,105	4,134	4,198	4,213
12	19,479	Nonadekana	C ₁₉ H ₄₀	4,334	3,762	3,874	3,986	4,021
13	20,455	Eikosa	C ₂₀ H ₄₂	4,254	4,021	4,032	4,047	4,089
14	21,381	Hentrikosa	C ₂₁ H ₄₄	4,297	3,701	3,714	3,752	3,797
15	22,274	Dotrikosa	C ₂₂ H ₄₆	4,391	3,905	3,923	3,966	4,103
16	23,128	Trikokosa	C ₂₃ H ₄₈	4,499	4,201	4,216	4,239	4,267
17	23,945	Tetradotrikosa	C ₂₄ H ₅₀	4,751	4,253	4,274	4,294	4,293
18	24,732	Pentadotrikosa	C ₂₅ H ₅₂	4,880	4,486	4,489	4,476	4,497
19	25,493	Heksadotrikosa	C ₂₆ H ₅₄	4,794	4,372	4,385	4,407	4,457
20	26,226	Oktaadotrikosa	C ₂₇ H ₅₆	5,105	4,571	4,598	4,623	3,754
21	27,619	Nonadotrikosa	C ₂₈ H ₅₈	3,607	3,170	3,197	3,262	3,394
22	28,282	Triakontana	C ₃₀ H ₆₂	2,937	2,302	2,313	2,325	2,387
Total luas puncak (%)				89,087	78,164	79,029	79,873	79,947
Jumlah perubahan TH (%)				-	10,903	9,978	11,098	9,060
Persen perubahan TH setelah kontak				-	12,258	12,773	16,574	11,343
Jumlah luas puncak Hidrokarbon Alikatik (HAl)				-	75,279	76,074	76,897	76,973
Jumlah luas puncak Hidrokarbon Aromatik (Har)				-	2,825	2,935	2,976	2,974

Lampiran 5.6: Jenis Komponen Hidrokarbon dan Waktu Retensi pada Limbah *Sludge* Minyak Bumi Setelah Kontak dengan Biakan Murni Bakteri *Pseudomonas sp*

Komponen hidrokarbon dalam limbah SMB setelah kontak dengan suspensi biakan murni *Pseudomonas sp* berdasarkan perlakuan

No. urut	W. Retensi (Menit)	Nama Senyawa	Rumus Molekul	Sbl kontak	Persen Komp. 35 hari kontak			
					Perl. 1	Perl. 2	Perl. 3	Perl. 4
1	6,639	Dekana	C ₁₀ H ₂₂	2,741	2,161	2,179	2,198	1,212
2	8,095	Undekana	C ₁₁ H ₂₄	3,464	2,952	2,999	3,098	3,123
3	10,752	Dodekana	C ₁₂ H ₂₆	3,490	2,791	2,822	2,841	2,937
4	12,344	Tridekana	C ₁₃ H ₂₈	4,403	3,083	3,125	3,149	3,182
5	13,759	Tetradekana	C ₁₄ H ₃₀	4,200	3,309	3,410	3,487	3,513
6	14,109	2,7-dimethyl Naphthalena*	C ₁₂ H ₁₂	1,746	1,745	1,747	1,746	1,742
7	15,053	Pentadekana	C ₁₅ H ₃₂	5,692	4,904	4,947	4,977	4,997
8	16,259	Hexadekana	C ₁₆ H ₃₄	4,920	4,051	4,089	4,123	4,189
9	17,281	Aziflora*	C ₁₆ H ₃₂	1,280	1,278	1,277	1,278	1,273
10	17,390	Heptadekana	C ₁₇ H ₃₆	4,766	4,071	4,129	4,187	4,203
11	18,463	Oktaadekana	C ₁₈ H ₃₈	4,452	3,785	3,866	3,931	4,023
12	19,479	Nonadekana	C ₁₉ H ₄₀	4,334	3,571	3,609	3,641	3,821
13	20,455	Ikosana	C ₂₀ H ₄₂	4,254	3,792	3,874	3,929	4,049
14	21,381	Ikosikosan	C ₂₁ H ₄₄	4,297	3,101	3,185	3,261	3,397
15	22,274	Dokosan	C ₂₂ H ₄₆	4,391	3,505	3,615	3,729	3,923
16	23,128	Trikosan	C ₂₃ H ₄₈	4,499	3,785	3,876	3,944	4,067
17	23,945	Tettrakosan	C ₂₄ H ₅₀	4,751	3,851	3,907	3,931	4,093
18	24,732	Pentakosan	C ₂₅ H ₅₂	4,880	3,917	3,996	4,023	4,157
19	25,493	Heksakosan	C ₂₆ H ₅₄	4,794	3,887	3,936	3,967	4,121
20	26,226	Oktaikosana	C ₂₇ H ₅₆	5,105	4,191	4,226	4,272	4,314
21	27,619	Nonakosana	C ₂₈ H ₅₈	3,607	3,065	3,121	3,147	3,194
22	28,282	Triakontana	C ₃₀ H ₆₂	2,937	2,204	2,239	2,273	2,317
Total luas puncak (%)				89,007	73,679	74,174	75,132	75,857
Jumlah perubahan TH (%)				-	15,928	14,833	13,098	13,150
Persen perubahan TH setelah kontak				-	17,895	20,297	17,658	17,583
Jumlah luas puncak Hidrokarbon Alikatik (HAI)				-	70,856	71,150	72,108	72,842
Jumlah luas puncak Hidrokarbon Aromatik (HAr)				-	3,023	3,024	3,024	3,015

Lampiran 6: Perubahan Luas Puncak dan Konsentrasi Komponen Hidrokarbon Alifatik

Perubahan luas puncak dan konsentrasi komponen hidrokarbon Alifatik dalam sludge setelah

masa kontak 35 hari berdasarkan perlakuan

WR	Nama Komp.	Sebelum Perlakuan		Setelah Perlakuan dan Masa Kontak 35 hari									
		L. Puncak	Kons.	L. Puncak	Kons.	L. Puncak	Kons.	L. Puncak	Kons.	L. Puncak	Kons.	L. Puncak	Kons.
		1 (sebelum kontak)		2 (Penambahan NFK)		3 (Penamb. NFK + Shaker)		4 (Shaker)		5 (Tanpa shaker dan NFK)			
6,639	Dokana	1518816	31,636,98	72987	15,122,31	688123	14,541,98	736532	15,341,96	797672	16,613,51		
8,395	Undekana	1919661	39,986,33	829914	17,287,11	781341	16,278,33	836732	17,429,13	883217	18,397,41		
10,792	Dodekana	1933855	40,282,20	917231	19,105,92	901236	18,772,75	928893	19,332,18	970235	20,210,08		
12,544	Tridekana	2439943	50,624,01	1548239	32,249,82	1500233	31,249,83	1562194	32,540,50	1598127	33,288,99		
13,759	Tetradekana	2327536	48,482,62	1217892	25,368,69	1153454	24,026,43	1234129	25,706,91	1268890	26,481,81		
15,053	Pentadekana	3153882	65,695,36	2124355	44,250,94	2092345	43,583,55	2139236	44,560,29	2173812	45,263,94		
16,259	Heksadekana	2726536	56,793,79	1219026	25,392,31	1180365	24,567,08	1267235	26,396,51	1299432	27,067,17		
17,390	Heptadekana	2641943	55,031,67	1598237	33,312,11	1562354	32,843,83	1610243	33,541,36	1656789	34,582,57		
18,483	Oktaadekana	2466889	51,385,30	1775792	36,989,75	1723456	35,878,76	1789123	37,267,43	1812125	37,746,56		
19,479	Nonadekana	2481720	50,027,53	1777814	37,033,95	1714902	35,721,41	1786462	37,212,42	1816267	37,832,84		
20,455	Eikosa	2387280	48,188,48	1643912	34,242,69	1611236	33,562,05	1654787	34,469,21	1687342	35,147,33		
21,381	Hentriakosa	2181339	48,603,29	1258691	26,156,04	1206462	25,130,60	1273126	26,519,21	1302391	27,128,80		
22,274	Dokosa	2433219	50,663,95	1582394	32,961,27	1580213	32,290,94	1597235	33,270,41	1633912	34,034,39		
23,128	Triakosa	2493808	51,929,36	1697214	35,352,97	1679265	34,979,09	1701273	35,437,52	1744567	36,339,33		
23,945	Tetraakosa	2632960	54,844,56	1739193	36,227,39	1711912	35,659,13	1756723	36,592,54	1789123	37,267,43		
24,732	Pentakosa	1830895	38,120,05	1098126	22,873,96	1061367	22,108,27	1101266	22,939,41	1123945	23,411,77		
25,493	Heksakosa	2686345	55,331,67	1697123	35,351,07	1678123	34,788,66	1712301	35,667,23	1736789	36,177,31		
26,226	Oktaakosa	2828735	58,922,55	1989123	41,433,45	1963462	40,898,91	1999467	41,648,80	2081234	43,382,10		
27,619	Nonakosa	1988944	41,638,00	1072915	22,348,82	1050231	21,876,31	1063913	22,577,01	1098126	22,707,37		
28,282	Triakontana	1073261	22,356,03	853214	17,772,45	824682	17,178,13	865123	18,020,51	887234	18,481,08		
		46,215,845	962,676	28,364,522	598,833	27,635,762	575,653	28,638,215	596,471,53	29,385,431	611,473,63		
	Konsentrasi biodegradasi berdasarkan nilai luas puncak				61,37		59,88		61,96		63,52		

Lampiran 7: Perubahan Konsentrasi Komponen Alifatik dalam Limbah SMB untuk Perlakuan 1, menggunakan Bakteri *Bacillus Flexus* Strain PHCDB20

Nomor	Waktu Retensi	Luas Puncak setelah Kontak (hari)							
		0	5	10	15	20	25	30	35
1	6,639	1518818	1518823	1413421	1321942	1274571	811345	700112	698123
2	8,895	1919651	1919623	1534578	1456321	1331291	870121	800121	781341
3	10,752	1933855	1933456	1634565	1529821	1297214	1001283	931284	901236
4	12,344	2439943	2439768	2439768	2331931	2090202	1602349	1530122	1500233
5	13,759	2327538	2327431	2234123	2120198	1833454	1212783	1200102	1153454
6	14,189	968673	968546	942345	931221	860001	760912	744912	735342
7	15,053	3153882	3153567	3123123	3032914	2824523	2302934	2172341	2092345
8	16,259	2726538	2726512	2424523	2298321	1914521	1300276	1273452	1180365
9	17,281	709254	709234	689024	672167	667893	541283	508024	503024
10	17,390	2641943	2641873	2598212	2456312	2182354	1721022	1592354	1562354
11	18,463	2466889	2466889	2361219	2250953	1920012	1800012	1742456	1722456
12	19,479	2401720	2401523	2319810	2201834	1902125	1800125	1734902	1714902
13	20,455	2357200	2357102	2229192	2120764	1810213	1681347	1621236	1611236
14	21,381	2381339	2381123	2189461	2034567	1712782	1432931	1303462	1206462
15	22,274	2433219	2433001	2381721	2259123	1900217	1659327	1561245	1550213
16	23,128	2493008	2492852	2382156	2275692	1910231	1791234	1683265	1679265
17	23,945	2632960	2632763	2521043	2403456	2089727	1783202	1721912	1711912
18	24,732	1830055	1829823	1729821	1690123	1317125	1102372	1081367	1061367
19	25,493	2656345	2656123	2492563	2319872	2021110	1792346	1680123	1670123
20	26,226	2828735	2828567	2719254	2632409	2300326	2100128	1983462	1963462
21	27,619	1998944	1998678	1791299	1623764	1382001	1192345	1060231	1050231
22	28,282	1073261	1073001	1029264	1000012	985142	871239	825789	824682
Jumlah		47893770	47890278	45180485	42963717	37527035	31130916	29452274	28874128

Nomor	Nama Komp. Hidrokarbon	Nilai "k"	Konsentrasi							
1		k (mg/L)	0	5	10	15	20	25	30	35
2	Dekana	0.02083	31.636,98	31.637,08	29.441,56	27.536,03	26.549,31	16.900,32	14.583,33	14.541,90
3	Undekana	0.02083	39.986,33	39.985,75	31.965,26	30.335,17	27.730,79	18.124,62	16.666,52	16.275,33
4	Dodekana	0.02083	40.282,20	40.273,89	34.047,99	31.866,17	27.020,97	20.856,72	19.398,65	18.772,75
5	Tridekana	0.02083	50.824,01	50.820,37	50.820,37	48.574,12	43.538,91	33.376,93	31.872,44	31.249,85
6	Tetradekana	0.02083	48.482,62	48.480,39	46.536,78	44.163,72	38.190,85	25.262,27	24.998,12	24.026,45
7	2,7-dimethyl Naphthalena*	0.02083	20.177,46	20.174,81	19.629,05	19.397,33	17.913,82	15.849,80	15.516,52	15.317,17
8	Pentadekana	0.02083	65.695,36	65.688,80	65.054,65	63.175,60	58.834,81	47.970,12	45.249,66	43.583,55
9	Heksadekana	0.02083	56.793,79	56.793,24	50.502,81	47.874,03	39.879,47	27.084,75	26.526,01	24.587,00
10	Azulena*	0.02083	14.773,76	14.773,34	14.352,37	14.001,24	13.912,21	11.274,92	10.582,14	10.477,99
11	Heptadekana	0.02083	55.031,67	55.030,21	54.120,76	51.164,98	45.458,43	35.848,89	33.168,73	32.543,83
12	Oktadekana	0.02083	51.385,30	51.385,30	49.184,19	46.887,35	39.993,85	37.494,25	36.295,36	35.878,76
13	Nonadekana	0.02083	50.027,83	50.023,72	48.321,64	45.864,20	39.621,26	37.496,60	36.138,01	35.721,41
14	Eikosa	0.02083	49.100,48	49.098,43	46.434,07	44.175,51	37.706,74	35.022,46	33.770,35	33.562,05
15	Hentrikosa	0.02083	49.603,29	49.598,79	45.606,47	42.380,03	35.677,25	29.847,95	27.151,11	25.130,60
16	Dokosa	0.02083	50.683,95	50.679,41	49.611,25	47.057,53	39.581,52	34.563,78	32.520,73	32.290,94
17	Triakosa	0.02083	51.929,36	51.926,11	49.620,31	47.402,66	39.790,11	37.311,40	35.062,41	34.979,09
18	Tetrikosa	0.02083	54.844,56	54.840,45	52.513,33	50.063,99	43.529,01	37.144,10	35.867,43	35.659,13
19	Pentakosa	0.02083	38.120,05	38.115,21	36.032,17	35.205,26	27.435,71	22.962,41	22.524,87	22.108,27
20	Heksakosa	0.02083	55.331,67	55.327,04	51.920,09	48.322,93	42.099,72	37.334,57	34.996,96	34.788,66
21	Oktaokosa	0.02083	58.922,55	58.919,05	56.642,06	54.833,08	47.915,79	43.745,67	41.315,51	40.898,91
22	Nonakosa	0.02083	41.638,00	41.632,46	37.312,76	33.823,00	28.787,08	24.836,55	22.084,61	21.876,31
	Triakontana	0.02083	22.356,03	22.350,61	21.439,57	20.830,25	20.520,51	18.147,91	17.201,18	17.178,13
Jumlah			997.627,23	997.554,49	941.109,50	894.934,23	781.688,14	648.456,98	613.490,87	601.448,09

Lampiran 8 Waktu Retensi, Konsentrasi Hidrokarbon sebelum dan setelah Proses Biodegradasi

WR	Kons. Hidroka sbl perlakuan	Konsentrasi Hidrokarbon setelah perlakuan			
		Perl. 1	Perl.2	Perl. 3	Perl.4
6,639	1518818	14.323,90	14.541,90	14.609,91	14.443,92
8,895	1919651	16.012,12	16.275,33	16.373,34	16.172,30
10,752	1933855	18.534,71	18.772,75	18.870,76	18.575,72
12,344	2439943	31.012,81	31.249,85	31.347,84	31.146,82
13,759	2327538	23.876,23	24.026,45	24.124,43	23.923,43
14,189	968673	15.212,13	15.317,17	15.415,15	15.214,13
15,053	3153882	43.280,23	43.583,55	43.681,52	43.481,53
16,259	2726538	24.381,15	24.587,00	24.685,02	24.483,02
17,281	709254	10.407,12	10.477,99	10.575,92	10.272,96
17,390	2641943	32.348,16	32.543,83	32.641,81	32.340,80
18,463	2466889	35.571,14	35.878,76	35.975,73	35.674,73
19,479	2401720	35.451,13	35.721,41	35.823,40	35.623,40
20,455	2357200	33.321,17	33.562,05	33.665,01	33.260,02
21,381	2381339	25.030,12	25.130,60	25.233,63	25.132,61
22,274	2433219	32.018,42	32.290,94	32.391,91	32.192,92
23,128	2493008	34.458,09	34.979,09	35.076,05	34.772,06
23,945	2632960	35.439,07	35.659,13	35.756,11	35.454,11
24,732	1830055	22.008,11	22.108,27	22.205,23	22.003,24
25,493	2656345	34.489,15	34.788,66	34.886,63	34.585,64
26,226	2828735	40.672,73	40.898,91	40.996,84	40.694,90
27,619	1998944	21.356,22	21.876,31	21.974,12	21.674,30
28,282	1073261	17.002,19	17.178,13	17.275,10	17.574,11
	47893770	596.206,10	601.448,09	603.585,46	598.696,67

Glosarium

- Adisi: reaksi pemutusan ikatan rangkap pada senyawa alkena atau alkuna molekul hidrokarbon atau reaksi yang mengakibatkan perubahan ikatan tak jenuh menjadi ikatan jenuh*
- Agitasi: proses interaksi dilakukan dengan pemutaran komponen untuk meningkatkan kinerja dengan memasukan oksigen*
- Alisiklik: senyawa hidrokarbon kolongan alifatik sekaligus membentuk konformasi siklik*
- Amalgamasi:*
- Aureobasidium pullulans: jenis polisakarida (eksopolisakarida) yang diproduksi oleh Aureobasidium pullulans*
- Bakteri eksogenous; isolasi bakteri dipermukaan tubuh*
- Bakteri indigenous; isolasi bakteri dalam tubuh*
- Ballast: air bercampur minyak dari sisa pencucian kapal tanker, atau limbah minyak ini berasal dari tar ball atau kerak minyak mentah*
- Bau fermentasi: bau yang timbul dari medi degradasi sebagai kerja dari mikrosimbion spons dalam mendegradasi komponen hidrokarbon melalui mekanisme reaksi fermentasi*
- Berasosiasi: Hidup bersama organisme/mikroorganisme dalam interaksi metabolisme dalam waktu panjang*
- Bioabsorpsi: penyerapan fisik atau kimia berkaitan pada yang hidup*
- Bioadsorben: zat yang terlarut dalam cairan yang dapat menyerap/membentuk ikatan ionik semu dipermukaan melalui reaksi kimia yang berkaitan dengan hal hidup*
- Bioaktivitas: material esensial/ non esensial yang ada di alam menjadi bagian rantai makanan berpengaruh terhadap kesehatan manusia*
- Bioaugmentasi: teknik degradasi limbah dilakukan dengan menyebarkan mikroba tertentu yang spesifik pada area tercemar oleh limbah minyak*
- Biodegradabilitas: zat perombak yang dapat berada di lingkungan untuk waktu yang lama, dan jika beracun, dapat mencemari tanah dan air, menyebabkan kerugian bagi tanaman dan hewan yang hidup di lingkungan*
- Biodegradable: sampah yang dapat diuraikan secara sempurna oleh proses biologi oleh mikroorganisme dalam tanah baik secara aerob atau anaerob*
- Biodegradasi: bahan organik yang dirobuhkan oleh enzim dihasilkan oleh organisme hidup. Istilah yang sering digunakan dalam kaitannya dengan ekologi, pengelolaan sampah dan lingkungan*

- Biodegradasi: zat sejenis enzim diproduksi organisme hidup yang mampu merombak bahan organik*
- Biodestruksi: proses perombakan/penrusakan struktur polutan oleh kerja bakteri dalam proses reaksi oksidasi*
- Biofilter: metode bioremediasi dengan cara memisahkan gas organik dengan melewati udara melalui kompos atau tanah yang mengandung mikroorganisme yang mampu mendegradasi gas*
- Biomassa: material penyusun spons yang berpotensi mendegradasi komponen hidrokarbon, berpotensi sebagai pendegradaasi hidrokarbon yang efektif apabila dilakukan pemisahan melalui isolasi dan purifikasi sekaligus dapat dilakukan karakterisasi mikrosimbion dan penentuan kadar biomassa spons*
- Biomaterial: bentuk zat kompleks spesifik hasil rekayasa yang dapat digunakan sebagai control interaksi dalam system kehidupan atau lingkungan*
- Bioreaktor: metode bioremediasi dilakukan dengan penanganan terhadap bahan yang terkontaminasi pada tanki besar yang mengandung organisme atau enzim.*
- Bioeduksi: proses perombakan/penurunan sifat toksik polutan oleh kerja bakteri dalam proses reaksi oksidasi*
- Bioremediasi: mikroorganisme yang bekerja dengan proses merobohkan atau mereduksi komponen untuk mengurangi polutan di lingkungan*
- Biostimulasi: teknik degradasi limbah dilakukan dengan menggunakan pupuk mineral untuk menstimulus tumbuhnya mikroba di lingkungan yang tercemar*
- Bioventing: teknik remediasi dengan menyemburkan oksigen ke dalam tanah untuk menstimulasi pertumbuhan mikroorganisme yang diharapkan dapat bekerja dalam meremediasi limbah.*
- Blooming: peledakan jumlah bakteri dalam media remediasi*
- Center Point of Indonesia: bagian penting Indonesia dalam area tertentu*
- Chelating: agen pembentuk kelat pada reaksi kompleks bekerja kurang efektif apabila ada faktor impuritis, misalnya logam-logam.*
- Chemical sludge: limbah dihasilkan dari proses koagulasi dan flokulasi*
- Cuplikan: pengambilan bagian kecil material/objek/sampel yang dianggap mewakili sebagian besar material/sampel untuk analisis selanjutnya*
- Cyperus kyllingia Endl: jenis tanaman yang potensial mengabsorpsi cemaran logam Mercury*
- Daya hambat: zat yang mengganggu pertumbuhan atau mematikan bakteri/organisme lain dengan mekanisme merusak metabolisme mikroba yang merugikan*

Deaktivasi: katalis akibat peracunan pada umumnya berlangsung lambat.
Peracunan disebabkan oleh adsorpsi kimia zat-zat dalam proses aliran

Degradasi: destruksi atau perombakan molekul organik dengan merusak struktur

Degradator: material yang berfungsi untuk mendegradasi/merobohkan bangunan sehingga memudahkan untuk masuknya zat lain agar tingkat toksik polutan menurun

Derivatif: produk turunan akibat perubahan karakteristik tanah

Destruksi: perombakan atau penggeseran, penggantian bahan organik tertentu agar dapat dianalisis

Diterpen: golongan senyawa organik terbentuk sekitar 4 molekul hidrokarbon (monoterpene), "di" berulang 2 kali

Efek letal: reaksi yang terjadi terhadap zat mengalami perubahan secara fisika dan kimia

Ekosistem: buhungan timbal balik tak terpisahkan makhluk dihip dengan lingkungan dalam system ekologi

Eksotermik: proses pembakaran sempurna atau tidak sempurna yang menghasilkan kalor

Eksplotasi; pemanfaatan berlebihan atau sewenang-wenang terhadap subjek untuk kepentingan tertentu

Eksplorasi; Tindakan penemuan dengan pencarian, penjelajahan

Ekstraksi; pemisahan zat/komponen berdasarkan perbedaan kelarutan dua jenis cairan

Emulsifikasi: pembentukan suatu emulsi yang stabil, sehingga diantara 2 cairan yang saling tidak tercampur dengan adanya zat penstabil atau pengemulsi

Enzim regulator: enzim yang berada dalam jalur reaksi biokimia yang bekerja bersama-sama dalam rangkaian metabolisme.

Enzim: biomolekul berupa senyawa jenis protein dapat mempercepat proses reaksi/biologis berlangsung secara siklus tanpa habis bereaksi

Evaporasi: Proses pembakaran dalam keadaan cair

Evaporasi; proses perubahan molekul keadan cair menjadi gas terjadi spontan, atau lenyapnya cairan berangsur-angsur ketika terpapar pada gas

Fase stasioner: tahap yang dilalui oleh bakteri dimana jumlah sel yang membela relatif sama dengan jumlah sel yang mati sehingga sel dalam koondisi konstan

Fenotip: sifat yang tampak atau terekpresikan dari objek tertentu

Fisiologi: *system biologi makhluk yang mempelajari keberlangsungan kehidupan*

Fitoplanton: *komponen autotroph planton yang mampu menyediakan makanan sendiri berupa bahan organik dengan bantuan energy matahari/kimia*

Fitotoksik: *zat racun yang diproduksi oleh tanaman, umumnya tanaman tingkat tinggi golongan angiospermae*

Fitotoksisitas: *keracunan tanaman karena kelebihan unsur hara yang biasanya terjadi karena pemberian yang berlebihan untuk tujuan peningkatan kesuburan tanaman*

Flokulasi: *proses pembentukan/penggabungan partikel dalam minyak menjadi butiran yang lebih besar agar mudah mengendap dengan bantuan penambahan zat kimia tertentu*

Genom: *keseluruhan informasi genetik (asam nukleat) yang dimiliki suatu isolat/sel/organisme*

Genotip: *kode genetik atau turunan sifat dalam sel dari individu yang mempengaruhi*

Gram negatif: *bakteri yang menghasilkan warna merah/merah muda pada saat proses pewarnaan gram karena perbedaan struktur dinding sel*

Gram positif: *bakteri yang mempertahankan zat warna Kristal jingga/ menghasilkan warna biru/ungu pada saat proses pewarnaan gram karena perbedaan struktur dinding sel*

Hidrofilik: *senyawa yang dapat berikatan dengan air*

Hidrofob: *sifat fisik suatu molekul yang ditolak (tidak ada daya tarikan) oleh massa air*

Imunogenik: *molekul yang dapat memicu aktifnya respon kekebalan humoral ataupun kekebalan seluler*

Indigen: *proses penambahan dan adaptasi mikroba, dimana mikroba tersebut diperoleh atau diisolasi sebelumnya dari lahan tercemar*

Indigenous: *jenis bakteri yang memiliki karakter seperti lingkungan tempat tumbuh bakteri tersebut, diperoleh dengan cara isolasi untuk dikembangkan dalam remediasi lingkungan*

Isolasi: *pemisahan penarikan bahan yang diinginkan dari objek*

Isolat: *ekstrak, bahan tertentu yang terpisahkan dari objek asalnya*

Karakteristik mikrosimbion: *berupa fenotip yaitu suatu kenampakan sifat berupa bentuk yang dapat dideskripsikan sebagai tingkat ekspresi yang merupakan hasil interaksi genotip dan lingkungan, sedangkan genotip merupakan pewarisan sifat atau genetik dengan atau tanpa ekspresi fenotip dari satu atau beberapa sifat*

Karbonoklastik: *jenis bakteri yang dapat mengurai/ merombak senyawa/komponen hidrokarbon dengan cara digunakan sebagai sumber energy*

Karsinogenik: *zat racun yang memicu aktifnya sel kanker dalam tubuh*

Kerapatan optik: *kekeruhan yang tampak dalam media/reaktor biodegradasi yang teramati dengan spektrofotometer*

Koagulasi: *proses sedimentasi atau pengendapan partikulat pengotor minyak hasil olahan*

Kodingareng Keke: *pulau dalam gugusan kepulauan Spermonde*

Koloni: *populasi mikroorganisme (bakteri) yang menguasai tempat tertentu*

Komponen hidrokarbon limbah: *merupakan komponen utama dapat berupa komponen hidrokarbon alifatik dan aromatik memiliki daya racun (toksisitas) terhadap makhluk hidup laut, bahkan bersifat karsinogenik terhadap kesehatann manusia, yaitu suatu zat yang dapat menimbulkan aktifnya sel penyebab penyakit kanker*

Komponen terdegradasi: *komponen hidrokarbon yang mengalami reduksi (degradasi) struktur akibat perombakan oleh enzim yang dihasilkan mikroorganisme (bakteri) sebagai hasil kerja reaksi oksidasi oleh enzim oksidogenase*

Konsorsium bakteri: *sekelompok bakteri yang memiliki sifat/ kemampuan sama dalam perombakan komponen toksik*

Konsorsium karbonoklastik: *sekelompok bakteri yang memiliki sifat mengurai/ merombak senyawa/komponen hidrokarbon dengan cara digunakan sebagai sumber energy*

Kontaminasi: *terpapar, dikotori, pencampuran, kerusakan bahan yang mendatangkan efek tidak baik*

Kultivasi: *teori balik dari suatu proses degradasi untuk melihat efek atas proses yang berlangsung*

Kultur: *metode memperbanyak mikroba pada media kultur dengan pembiakan yang terkendali agar organisme berkelebihan*

Kultur: *peremajaan atau perbanyakkan jumlah komponen atau sel bakteri/mikroba*

Landfarming: *teknik remediasi dengan penggunaan teknik farming tilling dan soil amandement untuk mendorong pertumbuhan mikroorganisme bioremediasi di lokasi terkontaminasi.*

Lendir spons: *zat yang diproduksi oleh mikrosimbion spons untuk mengatasi efek sedimentasi di area habitat*

Lethal: *pencemaran limbah minyak bumi yang dapat mematikan biota laut yang terpapar*

Lindernia crustacea (L.) F.: jenis tanaman yang potensial mengabsorpsi cemaran logam Mercury

Lingkungan Ekstrim: lingkungan spesifik hanya didiami organisme tertentu

Logam berat: jenis logam dengan (nomor, densitas, bobot) atom tinggi

Mentode perlakuan biodegradasi: cara yang dilakukan untuk menginteraksikan antara mikrosimbion/biomassa spons dengan limbah SMB untuk meningkatkan kinerja mikrosimbion mendegradasi/merombak komponen hidrokarbon yang dilakukan dengan pemberian nutrien dan suplai oksigen;

Methanogenic: mikroorganisme yang menghasilkan metana sebagai produk sampingan metabolik dalam kondisi anoxic

Mikoremediasi: biodegradasi menggunakan isolat dari jamur sebagai mikroorganisme pengurai komponen hidrokarbon

Mikrosimbion: interaksi biologi bersama antara mikroorganisme/organisme

Mikrosimbiosis: hidup besama dan berinteraksi biologis antara dua mikroorganisme/organisme dalam jangka waktu panjang

Mikroskopik: keadaan atau objek yang tidak bisa dilihat dengan mata telanjang

Miselium ekstraselular: Jenis mikroorganisme dari fungi yang berfungsi memproduksi enzim dan asam untuk memecah lignin dan selulosa yang merupakan penyusun utama tanaman berserat

Morfologi: bentuk organisme hewan atau tumbuhan

Mutagenik: perubahan/mutasi susunan genetic DNA maupun RNA

Mutagenik: zat racun pemicu terjadinya mutasi genetik sebagai bentuk respon tubuh

Naftinik: senyawa karbon siklik membentuk konformasi naftalena

Non-biodegradable: sampah yang tidak bisa diuraikan oleh proses biologi oleh mikroorganisme

Nonpolar: jenis senyawa yang terbentuk akibat adanya ikatan antar elektron pada unsur yang membentuknya

Non-recyclable: sampah yang tidak memiliki nilai ekonomi dan tidak dapat diolah atau diubah kembali

Offshore: aktivitas pengeboran minyak di lepas pantai

Oil sludge: lumpur minyak bumi

Paparan akut: kontaminasi yang terjadi dalam volume banyak dan tiba-tiba

Paparan kronis: kontaminasi yang terjadi terus menerus

Parafin: biasa disebut lilin yang merupakan nama umum untuk alkana dengan formula C_nH_{2n+2}

Parameter biodegradasi: *status kimia limbah sebagai indiokator yang dijadikan parameter penilaian yang menunjukkan bahwa terjadi atau tidak degradasi komponen hidrokarbon oleh mikrosimbion (bakteri) dan biomassa spons*

Paspalum conjugatum L.: jenis tanaman yang potensial mengabsorpsi cemaran logam Mercury

Pellet: *proses perolehan biomassa dengan cara sentrifugasi untuk mendapatkan selurry yang terkonsentrat*

Pemfiksasi: *zat yang berperan dalam proses fiksasi yang dapat dilakukan secara alami dan buatan, contoh fiksasi nitrogen*

Phytana: *jenis alkana golongan diterpenoid yang ada dalam setiap produk minyak bumi terbentuk dari dehidroksilasi phytol mengandung atau memiliki satu karbon tambahan, merupakan produk pemecahan klorofil dan sekarang digunakan untuk menunjukkan kadar CO₂ dalam minyak bumi kuno, sehingga dipahami sebagai penciri minyak bumi*

Planton: *organisme renik yang bergerak mengikuti arus atau zat renik yang hidup dalam zona pelagik atau hidup pada permukaan samudra, laut dan badan air tawar*

Poli Aromatik Hidrokarbon (PAH): *molekul organik dibentuk oleh unsur karbon dan hydrogen bentuk siklik aromatik dan hidrofobik*

Polimerisasi: *penggabungan molekul hidrokarbon dengan pola berulang dan sejenis menjadi molekul makro karena mempunyai ikatan yang tak jenuh*

Polip spons: *bagian yang ditemukan di filum Cnidaria, berbentuk selinder dan memanjang pada sumbu tubuh berbentuk vas*

Polutan: *bahan/ benda pencemar yang beradapa pada suatu objek baik langsung maupun tidak langsung*

Polymerase Chain Reaction (PCR): *metode in vitro untuk menghasilkan sejumlah fragmen DNA spesifik panjang dan jumlah skuens yang telah ditentukan*

Potensi spons laut: *Spons Indonesia mencapai 80 % dari jumlah spons laut dunia. Beberapa jenis spons tersebut dapat hidup pada perairan tercemar hidrokarbon limbah minyak bumi dan dapat pula bersimbion dengan bakteri pendegradasi komponen hidrokarbon*

Predator spons: *pemangsa binatang yang berburu dan memangsa binatang lain, contoh cnidaria*

Primary sludge: *limbah yang berasal dari tangka sedimen pada pemisahan awal*

Pristane: *jenis alkana terpenoid jenuh alami yang ada dalam setiap minyak bumi, juga sebagai penciri/penanda produk minyak bumi*

Proses biodegradasi: *mekanisme perombakan komponen hidrokarbon oleh enzim yang dihasilkan bakteri akibat kontak. Perombakan hidrokarbon limbah SMB terjadi sebagai upaya bakteri mempertahankan hidup dengan memanfaatkan karbon sebagai sumber energi dan nutrien*

Psikrofilik: *mikroba yang hidup pada suhu rendah sampai paling tinggi 250C. Contoh: Bakteri yang hidup di laut (Fototrof), bakteri besi (Gallionella), Bacillus polymixa, Pseudomonas, Micrococcus, Clostridium botulinum*

Pullulan: *biopolymer yang larut air sehingga banyak aplikasinya dalam industry pangan, sebagai bahan baku pengemasan, bahan dasar kosmetik*

Radikal bebas: *molekul yang mempunyai electron tidak berpasangan atau kehilangan satu buah electron dari pasangan electron bebas sebagai hasil pemisahan homolitik ikata kovalen*

Radioaktif: *kemampuan inti atom yang tak-stabil untuk memancarkan radiasi dan berubah menjadi inti stabil*

Radionuklida: *isotop dari zat radioaktif yang mampu memancarkan radiasi, dapat terjadi secara alamiah atau sengaja dibuat oleh manusia dalam reaktor penelitian*

Recyclable: *sampah yang dapat diolah dan digunakan kembali karena memiliki nilai secara ekonomi*

Reduksi: *pengurangan atau penurunan sifat racun bahan kimia*

Refinery: *tangki penyulingan*

Refines: *hasil penyulingan minyak*

Resisten: *system dalam organisme yang memiliki sikap/ perilaku bertahan, menahan, melawan, menentang atau oposisi terhadap ketahanan organisme lainnya*

Seawage: *merupakan limbah cair pemukiman.*

Sekuensing: *Penentuan struktur primer rantai biopolymer tak bercabang*

Sentrifugasi: *proses pemisahan sel organisme dengan cara pemusingan sehingga akan terbentuk endapat (pellet) dan supernatan*

Shipping: *limbah cair pelayaran.*

Simbiosis: *hidup bersama dan berinteraksi biologis dua organisme/ mikroorganisme dalam jangka waktu panjang*

Skrining: *penelusuran, penapisan, metode deteksi dini, diagnose/pencarian jejak dan karakter pada objek tertentu*

Sludge: *limbah lumpur minyak bumi (SMB) dapat berwujud padat dan semi padat yang merupan hasil sedimentasi penyimpanan minyak mentah ataupun minyak hasil olahan;*

Sludge: lumpur/material semi-padat hasil samping pengolahan minyak bumi Spermonde; pulau di Makassar menyerupai sperma
Solubilizers: merupakan bahan kimia yang berfungsi untuk memecah minyak ke dalam partikel yang lebih kecil sehingga bisa terlihat homogen dengan air. Minyak dan air tidak pernah bisa bercampur
Spons laut: porifera, hewan laut vertebrata memiliki sponging atau spicula
Storage: tangki penyimpanan
Strain: karakteristik atau sifat khusus sebagai penciri bakteri
Sublethal: pencemaran limbah minyak bumi yang berakibat pada terhambatnya pertumbuhan, reproduksi dan proses fisiologis lainnya terhadap biota laut yang terpapar
Termofilik: jenis mikroba yang hidup pada suhu tinggi
Terpapar: terkontaminasi atau terkotori, ternoda yang dapat menimbulkan efek merugikan terhadap objek paparáannya
Toksit: zat beracun, umumnya diproduksi di dalam sel organisme hidup
Urban stormwater: limbah cair perkotaan
Urinoir: Perangkat sanitasi yang dikhususkan untuk buangan air kecil/urine
Zonasi: pembatasan area tertentu agar dapat dikontrol di diamati proses dinamika yang terjadi

Indeks

- Absorpsi; 197, 218
Adisi; 43; 104;
Agitasi; 54; 141; 158; 170; 184; 202;
Alifatik; 38a, b, c, d, e, f; 39a, b, c, d, e, f, g, h; 43; 44a, b, c; 47; 85; 104a, b, c, d; 124; 137; 138; 139a, b; 140; 149; 155; 158a, b; 159a, b, c, d, e; 161a, b, c, d; 162a, b, c; 163a, b; 164a, b; 166a, b; 166a, b; 167a, b; 168a, b, c, d; 169a, b; 171a, b; 172a, c, c; 173a, b; 179a, b, c, d; 182; 186a, b; 190a, b, c, d; 190a, b; 191a, b, c; 192a, b, c; 194; 195a, b; 197; 202; 211a, b; 213a, b; 214a, b
Amalgamasi; 217a, b
Aromatik; 48a, b, c, d, e, f; 53a, b; 59; 60; 85; 87; 89; 104; 123; 124; 137; 139; 158a, b, c; 159; 163; 169a, b; 171; 172a, b, c; 175a, b, c, d, e, f, g; 176a, b, c, d, e, f, g, h, i; 177a, b; 179; 180; 182; 194; 195a, b, c, d, e, f, g, h, i; 197a, b, c, d, e, f, g, h; 198a, b, c, d; 201; 202; 211a, b; 213; 214
Bacillus flexus; 84a, b; 85a, b; 138; 162a, b; 172; 184a, b, c; 185; 186a, b, c; 187; 188a, b; 215
Bacillus; 83; 84a, b, c, d, e; 85a, b, c, d; 96; 108; 109; 112; 114a, b, c; 138; 170; 197a, b, c, d, e; 198a, b; 205; 206; 207a, b; 209a, b; 210a, b; 214a, b, c, d; 215a, b; 216a, b; 219.
Ballast; 46; 47; 192
Base pair; 83; 183;
Berasosiasi; 113;
Bioabsorpsi; 61
Bioaugmentasi; 59; 100a, b; 110
Biodegradabilitas; 219
Biodegradasi; 61a, b; 85a, b, c, d; 87a, b; 88; 90; 91a, b, c, d; 110a, b, c, d, e; 109; 113a, b, c, d; 114a, b, c; 115a, b, c; 116a, b; 217; 125a, b, c, d, e; 126a, b, c, d; 127a, b, c, d, e, f; 128a, b, c, d, e, f, g; 129a, b, c, d, e; 130a, b, c, d, e, f, g, h, i, j; 131a, b, c; 136a, b, c; 137a, b, c, d, e; 138a, b, c, d, e, f; 170a, b; 185a, b, c, d, e, f, g; 186a, b, c, d; 187; 188; 192; 193; 206a, b, c, d, e, f; 207; 208a, b, c, d, e, f, g, g; 209a, b, c, d, e; 209a, b, c, d, e, f, g, h; 213; 214a, b, c, d; 216a, b, c, d, e; 219a, b
Biodestruksi; 220
BioEdit; 83a, b, c;
Biofilter; 100
Biomaterial; 43; 61; 113, 116; 136, 153a, 156b, 169, 170; 173; 174 179; 101a, b; 212a, b, c;
Bioreaktor; 100
Bioreduksi; 220
Bioremediasi; 59; 117; 117a, b, c, d; 119a, b; 121; 122a, b, c, d; 124a, b; 179; 220; 195;
Biostimulasi; 59a, b
Bioventing; 100

Blooming; 101
Brevibacillus; 3, 153.
Brevibacterium; 3, 108; 153.
Callyspongia; 66; 67a, b, c, d; 68a, b, c, d; 69a, b; 71a, b, c; 75a, b, c, d, e; 77;
 78; 79a, b; ; 81; 82; 84a, b, c; 85a, b; 89; 90a, b, c, d, e; 91; 181; 184;
 185; 187; 189; 196; 206; 209; 215a, b
 Chelating; 219
 Chemical sludge; 50
*Cyperuskyllingia*Endl; 218
 Deaktivasi; 197; 202;
 Degradasi; 31; 50a, b; 54a, b, c; 55a, b; 58a, b, c, d; 59a, b, c, d, e; 60; 95a, b, c,
 d, e, f, g, h, i; 96a, b, c; 98a, b, c, d; 101; 103a, b, c; 104a, b, c, d, e, f, g,
 h; 103; 104; 107; 106a, b, c; 109a, b; 108; 111a, b; 112a, b; 111a, b; 117a,
 b, c, d; 122a, b, c, d, e, f, g; 123a, b, c, d; 128a, b, c, d, e, f, g; 129a, b, c,
 d; 130a, b, c, d, e; 132; 130a, b, c, d, e; 136a, b, c; 135; 137a, b, c, d, e, f;
 138; 182a, b, c, d, e; 186a, b, c, d, e, f, g, h, i, j; 187; 188a, b, c, d, e;
 189a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, k, l, m, n, o; 190a, b, c, d, e, f, g; 191a, b, c, d,
 e, f, g, h, i; 192a, b, c, d, e, f, g, h, i; 197a, b, c, d; 196a, b, c, d, e; 197a,
 b, c, d, e, f, g, h, i; 198a, b, c; 170a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, k, l, m, n, o; 197a,
 b, c, d, e, f; 202a, b, c, d, e, f; 213a, b, c, d, e; 214a, b, c, d; 215a, b; 216a,
 b, c, d, e; 220
 Degradator; 60; 89; 114; 117; 125; 125a, b, c; 127; 128; 133; 170a, b, c, d;
 171a, b, c; 172a, b, c, d, e, f; 173a, b, c; 174a, b; 179; 187a, b; 188; 192;
 196; 201; 203; 200; 201; 203; 204; 209; 210; 211; 212a, b, c; 213a, b, c,
 d; 214; 215
 Denitrifikasi; 22
 Derivatif; 21
 Destruksi; 104a, b; 105; 179; 188; 218; 222; 223
 Efekletal; 54
 Ekosistem; 21a, b; 21; 60; 65; 98; 109; 120; 122a, b, c; 173; 196; 211; 212;
 212a, b; 217; 218
 Eksotermik; 39; 40
 Eksploitasi; 14; 24; 45; 49A, B; 54; 55; 97; 103; 105; 120; 139; 175;
 Eksplorasi; 8; 12; 23; 49; 53; 61a, b; 63; 62; 65; 118; 120; 139; 162; 180; 185
 Ekstraksi; 82a, b; 84; 133; 161; 174; 180; 185; 200; 204; 218; 219a, b
 Emulsifikasi; 47; 56; 98
 Enzim; 20; 38; 44a, b; 63; 68; 79a, b, c; 80; 81a, b, c, d, e; 97; 99a, b, c; 101a,
 b; 102; 103a, b, c, d, e, f; 106; 108; 200; ; 122; 114a, b, c, d, e, f, g; 115a,
 b, c, d, e, f, g, h, i, j, k; 127a, b, c, d, e; 129; 137a, b; 145; 147; 156; 170a,
 b, c, d, e, f; 171a, b, c, d, e, f, g, h; 172; 173a, b, c, d; 174a, b, c; 181a, b,
 c, d; 183a, b; 190; 205; 211a, b, c, d, e; 213; 214; 215
 Eutrofikasi; 19
 Evaporasi; 46, 55; 98; 168;
 Fasestasioner; 128; 167
 Fase; 67; 128; 145; 146; 167a, b, c; 169; 171; 200; 101; 214; 219

Fenotip; 76a, b; 84; 124; 126; 138; 183; 214
 Fisiologi; 58; 68; 85a, b; 86; 125a, b; 137; 183; 300
 Fitodegradasi; 9; 215
 Fitoekestraksi; 9; 215
 Fitofiltrasi; 9; 303
 Fitostabilisasi; 9; 217
 Fitotoksitas; 123; 217
 Fitotoksit; 123, 195
 Fitotransformasi; 9
 Fitovolatilisasi; 10
 Flokulasi; 50
GenBank; 74a, b; 83a, b; 84a, b;
 Genomik; 82a, b, c, d; 140; 204
 Genotip; 82; 84; 140; 184a, b, c; 214
 Gram negatif; 76; 183;
 Gram positif; 75a, b, c, d; 76a, b; 183;
 Hidrofilik; 122; 177a, b; 193
 Hidrofob; 122a, b; 177a, b; 194a, b;
 Hidrofobik; 122a, b; 177a, b; 194a, b;
 Hidrokarbonoklastik; 108; 111; 112a, b; 214
 Histomorfologi; 66; 67a, b
 Imunogenik; 219; 220
 Indigen; 100; 11; 121a, b; 122a, b; 173; 215
 Indigenous; 119, 120a, 220b; 121; 215
 Inventarisasi; 25; 26
 Isolasi; 54; 60; 112a, b; 129; 174a, b; 181; 182; 195; 197; 198a, b, c; 206a, b;
 209a, b; 2546a, b; 212a, b, c; 213; 214a, b; 215a, b, c, d; 216a, b, c; 217
 Isolat; 61a, b; 71a, b, c, d, e, f, g, h, i, j; 74a, b; 81a, b, c, d, e; 76a, b; 75a, b, c;
 78a, b, c, d, e, f; 79a, b, c, d, e, f, g, h, i, j; 80a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, k;
 81a, b, c, d, e, f, g, h, i, 82a, b, c; 83a, b, c; 84a, b, c, d, e; 85a, b, c, d, e,
 f, g, h, i; 86; 87a, b, c, d, e; 89a, b; 89a, b, c, d, e, f; 91; 92a, b; 110; 130;
 132; 151; 174a, b, c, d; 180a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, k, l; 184a, b, c, d, e;
 185a, b, c, d; 189a, b, c, d; 197; 198a, b, c, d, e; 199a, b; 200a, b, c; 201,
 b, c, d; 202a, b, c; 203a, b, c, d; 201a, b; 205a, b; 206a, b, c, d, e; 207a, b,
 c, d, e, f, g, h, i, j, l; 208a, b, c, d, e, f, g, h, i; 209a, b, c, d, e, f, g, h, i;
 211; 212; 213a, b, c, d, e, f, g; 214a, b; 215a, b, c
 Isotonik; 26.
 Karbonoklastik; 63, 111a, b, c; 112a, b; 114; 137; 153; 180; 197; 216
 Karsinogenik; 28; 45; 61; 63a, b; 64a, b, c; 94; 123; 139; 176a, b; 177a, b; 195;
 Katalase; 74; 76; 77a, b; 81a, b, c, d, e; 183a, b, c;
 Kerapatan optik; 125a, b, c, d, e, f; 126a, b, c; 150; 152; 185; 183; 200a, b;
 201a, b, c, d, e, f, g, h, i; 209a, b; 206a, b;
 Koagulasi; 50; 219
 Kodingareng Keke; 97; 213

Koloni; 58; 73a, b, c, d, e; 76; 77; 82; 85a, b, c, d; 87a, b; 88; 89a, b; 90a, b, c, d, e, f, g; 145a, b, c, d; 146; 147a, b; 148; 149; 150a, b, c; 155; 156; 167; 168; 170; 183a, b; 190a, b; 199a, b, c;
 Kontaminasi; 4; 5; 8; 9a, b, c; 10; 11; 12; 13a, b; 14; 31a, b; 57; 58; 68; 88; 96a, b; 97; 99; 100a, b; 101; 104; 112; 115; 119; 121; 139a, b, c; 140a, b; 147; 151; 154; 157; 178a, b; 178; 179; 197; 201a, b; 203; 208; 209; 209; 220a, b, c, d, e, f; 221
 Kultur; 141; 89a, b, c; 100a, b; 112; 126; 128; 130a, b; 139; 141; 174; 181; 183; 184a, b; 185a, b; 186; 198; 199; 203; 204; 205; 206; 208; 214
 Limbah B3; 27a, b, c; 28a, b, c; 29a, b, c, d, e, f, g; 30a, b, c, d, e; 31a, b, c, d, e, f, g;
Linderniacrustacea (L.) F; 218
 Lingkungan Ekstrem; 97; 117; 154a, b; 157a, b; 203; 208a, b; 221
 Logam berat; 8; 10a, b, c; 11a, b, c, d; 12; 15; 23a, b, c; 31; 50; 60; 61; 63; 65a, b, c; 68; 92a, b, c, d; 93; 97; 119; 197; 211a, b; 212; 217a, b; 218a, b, c, d; 219a, b, c, d, e; 221a, b, c, d, e, f, g, h; 221
Methanogenic; 212
 Mikoremediasi; 213
 Mikrosimbion; 61; 63; 64a, b; 65; 66; 67; 68; 69a, b, c; 70; 71a, b, c; 72; 73; 74; 75; 76; 84; 85; 89; 90; 92a, b, c, d; 93; 97; 125; 126; 128; 126; 132; 133a, b, c; 140a, b, c, d, e; 141; 142; 143a, b, c; 144; 145a, b; 181a, b, c; 182a, b, c; 183; 184; 182; 185a, b, c; 186; 194; 197a, b; 199a, b; 200;
 Mikroskopik; 71; 75
 Miselium ekstraselular; 213
 Moluska; 181; 212
 Morfologi; 73a, b; 76; 141a, b; 182a, b; 183; 214
 Mutagenik; 23a, b; 28; 63a, b; 63; 94; 123; 139; 175a, b; 181; 195;
 Naftinik; 46a, 46b; 102
Oil spill; 49
 Paparan akut; 20
 Paparan kronis; 20
 Parafin; 39; 47a, b; 104a, b; 195; 216
 Parafinik; 104a, b; 195a, b; 216
Paspalum conjugatum L; 218
 Pellet; 71; 174;
 Phytana; 131a, b, c, d, e, f; 158; 159; 160a, b; 161a, b; 162;
 Polimerisasi; 43
 Polutan; 7a, b, c, d, e; 8a, b, c; 9a, b; 10a, b; 61, 114a, b, c; 137a, b; 138; 139a, b; 155; 156a, b; 157; 162a, b; 176; 179a, b; 180; 181; 182a, b; 213; 219; 220a, b, c
 Polymerase Chain Reaction (PCR); 183; 214
 Predator; 7; 117; 171; 221a, b, c; 213
Primary sludge; 50
 Pristane; 132

Pseudomonas; 112; 114a, b, c, d; 115a, b; 142; 144; 150; 174; 186; 189a, b;
 214; 215a, b; 216; 217
 Psikrofilik; 181
 Radikalbebas; 21
 Radioaktif; 29; 31; 32a, b, c, d, e, f, g, h, I, j, k, l' 33a, b, c, d, e, f; 34a, b, c
 Radionuklida; 31a, b; 33a, b, c; 34a, b
 Recovery; 13a, b, c; 15a, b; 29; 30; 31; 60;
 Reduksi; 6; 10; 29; 33; 38a, b; 54; 96; 104; 121; 127; 129; 140; 179;
 216; 219; 221a, b
 Refines; 49
 Reflikasi; 4;
 Reflikasi; 114; 115
 Reklamasi; 85; 88; 175;
 Reservoir; 59; 99
Seawage; 46; 139;
 Sedimentasi; 46; 49; 55a, b; 98; 162;
Shipping; 46; 139;
 Symbion; 89a, b; 106a, b, c; 114; 125; 128; 131a, b; 132; 133, a, b, c; 140; 141;
 142; 143; 144; 145; 179; 181a, b, c; 182a, b, c, d; 183a, b, c, d, e, f, g, h,
 i; 184a, b; 185a, b; 186a, b, c, d, e, f; 187; 188a, b, c, d; 189a, b; 190a, b,
 c; 191a, b; 195; 196; 197; 200a, b; 201a, b; 202; 212; 213a, b, c; 214a, b,
 c, d, e, f, g, h, i, j
 Simbiosis; 61; 66a, b; 82; 94a, b; 97; 213
 Skrining; 60; 61; 104
 Sludge; 41; 45; 49a, b, c, d, e; 50a, b, c, d, e, f, g, h, i; 61; 63a, b; 65a, b; 85; 86;
 102a, b, c, d; 104; 105a, b; 111a, b, c; 133a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, k, l, m,
 o; 134a, b; 135a, b, c, d, e, f, g; 136a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, k, l; 139a, b, s;
 140a, b, c, d, e, f; 141a, b, c, d, e; 142a, b; 144; 150; 152a, b; 57; 159;
 161; 162; 163a, b; 169; 172; 186a, b, c; 187; 188; 189; 202a, b; 203; 211;
 215
Solubilizers; 212
 Spermonde; 64; 97; 213
 Sponslaut; 65; 98a, b; 114; 140; 141; 195; 213a, b
 Spreading; 46; 97
 Strain; 75a, b; 84a, b, c; 85a, b, c, d; 108a, b; 138; 140; 142a, b; 143a, b, c;
 144a, b; 145a, b; 147a, b, c, d; 150a, b; 151a, b, c; 153a, b; 154a, b; 186a,
 b, c; 187a, b, c; 188a, b, c, d, e; 189a, b; 190; 192; 207a, b, c; 208a, b, c;
 210a, b, c; 213; 214a, b, c, d; 215a, b, c, d
 Sublethal; 58
 Substrat; 80; 81; 88; 117; 119; 120a, b, c; 137; 182; 189; 194a, b; 198; 219
 Surfaktan; 59; 112; 122; 130; 181; 218
 Termofilik; 181
 Tersolubilisasi; 107
 Toksik; 23; 28; 53; 61; 63; 65; 81; 107; 123; 138; 189; 191; 194; 195
Urban stormwater; 46; 139;

Urease; 74; 76; 77; 79a, b, c, d; 80a, b;
Urinoir; 36
Volatil; 22a, 23b; 100; 138
Zataktif; 64; 65

Riwayat Penulis

Dr. Ismail Marzuki, S.Si., M.Si., lahir di sebuah Kampung kecil bernama Kabere-Enrekang, 235 km ke Utara Kota Makassar, pada 03 Juli 1973. Mengikuti pendidikan formal Tingkat Sekolah Dasar Negeri 19 Kabere Tahun 1980-1986, Sekolah Menengah Pertama (SMP) Kabere Tahun 1986-1989, dan pendidikan Menengah Atas (SMA 1 Enrekang) 1989-1992. Gelar sarjana Sains (kimia) disandang tahun 1999, di Jurusan Kimia F.MIPA UNHAS, dan gelar Magister Sains (M.Si) diraih pada Tahun 2003.

Gelar Doktor diperoleh pada tahun 2016, Program Pasca Sarjana UNHAS dalam waktu tempu 3,4 tahun. Karir akademisi dimulai tahun 2000 hingga sekarang. Status PNS (Dosen) diperoleh pada Tahun 2005, unit kerja Kopertis wil. IX Sulawesi dipekerjakan pada Akademi Analis Kimia (AAK) Yapika Makassar. Karir pengelola kampus diawali Tahun 2002-2003, sebagai Direktur bidang Akademik AAK Yapika dan jabatan Direktur AAK Yapika Tahun 2003-2008.

Akhir Tahun 2008-2012, menjabat sebagai Ketua Bidang Akademik Sekolah Tinggi Ilmi Kesehatan (STIKES) Yapika Saat ini mengabdikan pada Universitas Fajar (UNIFA), Makassar sejak Tahun 2015 pada Prodi *home base* Teknik Kimia, Universitas Fajar. Tugas tambahan yang diamanahkan oleh UNIFA adalah Pimred Jurnal *Techno Entrepreneur Acta* (2016-sekarang), Ketua Unit Pusat Karir UNIFA (Tahun 2016-2018) dan Ketua Lembaga Penjaminan Mutu Internal UNIFA, (2019-sekarang). Pengalaman menulis buku pertama kali Tahun 2008 dengan judul Kimia Keperawatan, kemudian Biokimia Kesehatan, Lalu Kimia Farmasi, selanjutnya buku berjudul Analisis dan Instrumentasi Kimia, keempatnya merupakan buku ajar. Buku kelima sekaligus buku referensi pertama berjudul Eksplorasi Spons Indonesia: Seputar Kepulauan Spermonde, dan Buku ke-6, berjudul: Aplikasi Mikrosimbion Spons dalam Bioremediasi Lingkungan yang merupakan Hasil penelitian dalam tiga tahun terakhir 2016-2019. Pengalaman menulis lainnya yang oleh penulis adalah aktif menyampaikan gagasan pada kolom opini Harian Fajar, Blogspot (mynewismailmzblogspot.com) dan tempahan menulis artikel ilmiah yang telah dipublikasikan baik pada jurnal Nasional dan Internasional, juga banyak menghabiskan waktu mendampingi mahasiswa dalam menulis proposal PKM dan proposal kewirausahaan mahasiswa.