



TESIS - CL235401

**EVALUASI BIOREMEDIASI TANAH TERKONTAMINASI
MINYAK BUMI MENGGUNAKAN RASIO KULTUR
BAKTERI DAN VARIASI NUTRIEN**

BARITA AMJANI LIMBONG
6014231052

DOSEN PEMBIMBING
Prof. Bieby Voijant Tangahu, S.T., M.T., Ph.D

**DEPARTEMEN TEKNIK LINGKUNGAN
FAKULTAS TEKNIK SIPIL, PERENCANAAN, DAN KEBUMIHAN
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2025**



TESIS - CL235401

**EVALUASI BIOREMEDIASI TANAH TERKONTAMINASI
MINYAK BUMI MENGGUNAKAN VARIASI KULTUR BAKTERI
DAN RASIO NUTRIEN**

BARITA AMJANI LIMBONG
6014231052

DOSEN PEMBIMBING
Prof. Bieby Voijant Tangahu, S.T., M.T., Ph.D

**DEPARTEMEN TEKNIK LINGKUNGAN
FAKULTAS TEKNIK SIPIL, PERENCANAAN, DAN KEBUMIHAN
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2025**



THESIS - CL235401

BIOREMEDIATION OF OIL CONTAMINATED SOIL WITH
VARIATIONS OF BACTERIAL CULTURES AND
NUTRIENT RATIO

BARITA AMJANI LIMBONG
6014231052

SUPERVISOR
Prof. Bieby Voijant Tangahu, S.T., M.T., Ph.D

DEPARTMENT OF ENVIRONMENTAL ENGINEERING
FACULTY OF CIVIL, PLANNING, AND GEO ENGINEERING
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2025

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

Tesis disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar
Magister Teknik (MT)

di

Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh:

BARITA AMJANI LIMBONG

NRP: 6014231052

Tanggal Ujian: 9 Juli 2025

Periode Wisuda: September 2025

Disetujui oleh:

Pembimbing:

1. Prof. Bieby Voijant Tangahu, S.T., M.T., Ph.D
NIP: 197108181997032001

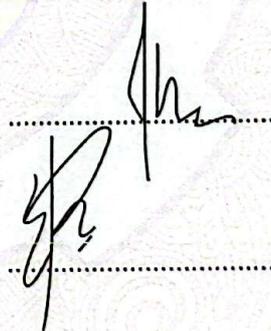


Penguji:

1. Prof. Dr. Ir. Sarwoko Mangkoedihardjo, MScES
NIP: 1954202431004



2. Ipung Fitri Purwanti, S.T., M.T., Ph.D
NIP: 197111142003122001



3. Ervin Nurhayati, S.T., M.T., Ph.D
NIP: 1980201712041

Kepala Departemen Teknik Lingkungan
Fakultas Teknik Sipil, Perencanaan, dan Kebumihan

Dr. Susi Agustina Wilujeng, ST., MT

NIP: 197108181994122001



Atribusi Konten:

“Penulis mengakui telah menggunakan ChatGPT v-1 dengan developer OpenAI dalam proses riset dalam tugas/karya ini.

Aplikasi AI tersebut berfungsi sebagai alat bantu untuk meningkatkan kualitas tulisan dan membantu dalam proses riset yang kompleks. Penting untuk diketahui bahwa konten yang dihasilkan oleh AI tidak disalin secara verbatim, melainkan telah direview secara keseluruhan, diedit, dan dikurasi oleh penulis untuk memastikan akurasi, otentibilitas, dan integritas dari informasi di dalamnya.

Penilaian dan keputusan individu berkontribusi besar dalam menginterpretasi dan memvalidasi keluaran AI ini. Oleh sebab itu, hasil akhir yang disampaikan ini merupakan hasil kolaborasi antara manusia dan AI.”

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
ABSTRAK	xi
KATA PENGANTAR	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Ruang Lingkup	3
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 <i>State of the art (SOTA)</i>	5
2.2 Limbah Bahan Berbahaya dan Beracun.....	6
2.2 Hidrokarbon sebagai limbah B3 minyak bumi	7
2.4 Lahan terkontaminasi limbah B3	10
2.5 Metode pemulihan lahan terkontaminasi limbah B3	11
2.6 Teknologi remediasi lahan terkontaminasi minyak bumi	12
2.7 Bioremediasi	12
2.8 Biostimulasi	14
2.9 Bioaugmentasi	15
2.10 Faktor–Faktor Yang Berpengaruh Dalam Bioremediasi.....	15
2.11 Proses biokimia degradasi TPH	18
BAB 3 METODE PENELITIAN	21
3.1 Gambaran Umum.....	21
3.2 Kerangka Penelitian	21
3.3 Studi Literatur	23
3.4 Variabel Penelitian	23
3.5 Rancangan penelitian Penelitian	24
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	29

4.1 Pelaksanaan Bioremediasi	29
4.2 Hasil Pengukuran Data Lapangan	29
4.2.1 <i>Total Petroleum Hydrocarbon (%)</i>	29
4.2.2 Variasi degradasi TPH	32
4.2.3 Perbandingan degradasi TPH rasio C:N:P 100:10:1 dan 100:5:1	34
4.2.4 <i>Total Plate Count (TPC)</i>	35
4.2.5 Pengukuran pH	37
4.2.6 Pengukuran kelembaban (%).....	38
4.2.7 Pengukuran suhu (°C)	40
4.2.8 Analisis ANOVA.....	41
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	43
5.1 Kesimpulan.....	43
3.2 Saran	43
DAFTAR PUSTAKA	44
BIOGRAFI PENULIS	48

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Dampak Kontaminan Hidrokarbon	8
Gambar 3. 1 Kerangka Penelitian.....	22
Gambar 3. 2 Fasilitas pengolahan limbah B3	24
Gambar 3. 3 Lokasi penelitian	25
Gambar 3. 4 Aktifitas Pemulihan Lapangan	28
Gambar 4. 1 Degradasi TPH variasi perlakuan terhadap waktu.....	30
Gambar 4. 2 Rata-rata degradasi TPH terhadap waktu	32
Gambar 4. 3 Degradasi TPH 3% dan 5% terhadap waktu.....	32
Gambar 4. 4 Degradasi kumulatif TPH terhadap waktu	33
Gambar 4. 5 Perbandingan rasio C:NP 100:10:1 dan 100:5:1.....	34
Gambar 4. 6 Hasil pengukuran pH terhadap waktu	38
Gambar 4. 7 Hasil pengukuran kelembaban terhadap waktu	39
Gambar 4. 8 Hasil pengukuran suhu terhadap waktu.....	40
Gambar 4. 9 Simulasi ANOVA.....	42

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Jalur metabolisme degradasi hidrokarbon.....	27
Tabel 3. 1 Matriks penelitian.....	26
Tabel 4. 1 Lonjakan populasi bakteri	35
Tabel 4. 2 Faktor dan response ANOVA	42

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Perhitungan pupuk yang diperlukan	49
Lampiran 2 Perhitungan populasi bakteri dan dosis yang optimal.....	51
Lampiran 3 Nilai baku mutu.....	52

EVALUASI BIOREMEDIASI TANAH TERKONTAMINASI MINYAK BUMI MENGGUNAKAN VARIASI KULTUR BAKTERI DAN RASIO NUTRIEN

Mahasiswa Nama : Barita Amjani Limbong
Mahasiswa ID : 6014231052
Pembimbing : Prof. Bieby Voijant Tangahu, S.T., M.T., PhD.

ABSTRAK

Sebaran kontaminasi hidrokarbon berupa tanah terkontaminasi minyak bumi berasal dari limbah pengeboran dan produksi minyak bumi. Kontaminan hidrokarbon dikategorikan sebagai limbah bahan berbahaya dan beracun (B3) yang telah mengendap lama di tanah yang dapat mengganggu ekosistem tanah dan siklus air tanah. Pemulihan tanah terkontaminasi minyak bumi dilakukan dengan teknologi bioremediasi *ex-situ*. Tanah terkontaminasi minyak bumi digali menggunakan alat berat, dikumpulkan di lokasi tercemar kemudian dikirim ke fasilitas pengolahan limbah B3 berizin. Penelitian bertujuan untuk melakukan evaluasi degradasi *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH) terhadap waktu dengan menggunakan metode biostimulasi dan bioaugmentasi untuk memenuhi parameter keberhasilan baku mutu nilai Total Konsentrasi (TK) *Petroleum Hydrocarbon* (PH) rantai panjang (C10- C36) dengan nilai $PH \leq TK-B 0,5\%$.

Biostimulasi menggunakan pupuk urea sebagai sumber N dan pupuk SP-36 sebagai sumber fosfor dengan variasi perlakuan rasio C:N:P 100:10:1 dan 100:5:1. Bioaugmentasi menggunakan variasi perlakuan bakteri *indigenous* yang tersedia secara alami di tanah tercemar dan variasi dengan penambahan bakteri *non-indigenous* hasil kultur bakteri.

Hasil penelitian menunjukkan waktu bioremediasi tercepat untuk mencapai parameter keberhasilan baku mutu adalah 28 hari dengan laju degradasi rata-rata 3%/hari. Uji statistik *Analysis of Variance* (ANOVA) 2 faktor dengan replikasi 4 kali menghasilkan P-value = 0,257 ($> 0,05$) sehingga rasio C:N:P tidak berpengaruh secara signifikan terhadap penurunan konsentrasi TPH. Rasio C:N:P 100:5:1 menunjukkan persentase degradasi TPH lebih tinggi dibandingkan rasio C:N:P 100:10:1. Tidak terdapat perbedaan signifikan laju degradasi TPH antara variasi perlakuan bakteri *indigenous* dan pencampuran dengan bakteri *non-indigenous*. Pendekatan perhitungan lonjakan populasi pencampuran bakteri non-indigenous menggunakan satuan logaritmik $\Delta \log_{10}$ menunjukkan hasil lonjakan populasi bakteri pencampuran sebesar $0,06 \log_{10}$ (1,14 kali) $< 0,5 \log_{10}$ (3,16 kali). Inokulum bakteri non-indigenous bertahan tetapi belum mendominasi jalur degradasi yang disebabkan akibat kompetisi bakteri dan dosis tunggal yang terlalu rendah. Parameter lingkungan seperti pH, kelembaban dan suhu berada dalam kondisi ideal selama penelitian.

Kata kunci: Bioaugmentasi, Bioremediasi, Biostimulasi, *Hydrocarbon*

EVALUATION OF BIOREMEDIATION CRUDE OIL CONTAMINATED SOIL USING BACTERIA CULTURE VARIATED AND NUTRIENT RATIO

Student Name : Barita Amjani Limbong
ID Number : 6014231052
Supervisor : Prof. Bieby Voijant Tangahu, S.T., M.T., PhD.

ABSTRACT

The spread of hydrocarbon contamination in the form of oil-contaminated soil originates from waste from drilling and oil production. Hydrocarbon contaminants are categorized as hazardous and toxic waste (B3) that has long been deposited in the soil, disrupting the soil ecosystem and the groundwater cycle. Remediation of oil-contaminated soil is carried out using ex-situ bioremediation technology. Oil-contaminated soil is excavated using heavy equipment, collected at the contaminated site, and then transported to a licensed B3 waste treatment facility. The study aims to evaluate the degradation of Total Petroleum Hydrocarbon (TPH) over time using biostimulation and bioaugmentation methods to meet the success parameters of the quality standards for the Total Concentration (TK) of long-chain Petroleum Hydrocarbon (PH) (with a PH value \leq TK-B 0.5%

Biostimulation uses urea fertilizer as a source of N and SP-36 fertilizer as a source of phosphorus with treatment variations of C:N:P ratios of 100:10:1 and 100:5:1. Bioaugmentation uses variations in the treatment of indigenous bacteria that are naturally available in contaminated soil and variations with the addition of non-indigenous bacteria from bacterial cultures.

The results of the study showed that the fastest bioremediation time to achieve the success parameters of the quality standards was 28 days with an average degradation rate of 3%/day. The 2-factor Analysis of Variance (ANOVA) statistical test with 4 replications produced a P-value = 0.257 ($>$ 0.05) so that the C:N:P ratio did not have a significant effect on the decrease in concentration. TPH. The C:N:P ratio of 100:5:1 showed a higher percentage of TPH degradation compared to the C:N:P ratio of 100:10:1. There was no significant difference in the rate of TPH degradation between the treatment variations of indigenous bacteria and mixing with non-indigenous bacteria. The approach to calculating the population spike of non-indigenous bacteria mixing using logarithmic units $\Delta \log_{10}$ showed a population spike of $0,06 \log_{10}$ (1,14 times) $<$ $0,5 \log_{10}$ (3,16 times). The non-indigenous bacterial inoculum survived but did not dominate the degradation pathway due to bacterial competition and a single dose that was too low. Environmental parameters such as pH, humidity and temperature were in ideal conditions during the study.

Keywords: Bioaugmentation, Bioremediation, Biostimulation, Hydrocarbon

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala berkat, karunia, kesehatan dan kekuatan yang telah diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis tepat sesuai dengan yang telah direncanakan. Tesis sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Teknik pada Program Pascasarjana Departemen Teknik Lingkungan Fakultas Teknik Sipil, Lingkungan dan Kebumihan Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya (ITS). Tesis disusun sebagai bentuk kontribusi ilmiah dalam bidang pengelolaan lingkungan, khususnya dalam pengembangan teknologi bioremediasi untuk pemulihan tanah terkontaminasi minyak bumi. Penelitian ini dilakukan berdasarkan kondisi operasional nyata di lapangan, terutama di wilayah operasional industri minyak dan gas, di mana pencemaran hidrokarbon menjadi tantangan yang kompleks dan memerlukan solusi berkelanjutan.

Dalam proses penyusunan tesis ini, penulis telah menerima banyak dukungan, bimbingan, dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

1. Ibu Prof. Bieby Voijant Tangahu, S.T., M.T, Ph.D, selaku dosen pembimbing, atas bimbingan, arahan, dan motivasi selama proses penelitian, asistensi dan penulisan tesis.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Sarwoko Mangkoedihardjo, MScES dan Ibu Ipung Fitri Purwanti, S.T., M.T., Ph.D serta Ibu Ervin Nurhayati, S.T., M.T., Ph.D selaku dosen penguji yang telah memberikan pertanyaan, arahan dan saran yang bermanfaat untuk penyelesaian penulisan tesis.
3. Ibu Dr. Susi Agustina Wilujeng, ST., MT selaku Kepala Departemen Teknik Lingkungan dan juga selaku Dosen Wali atas bimbingan dan arahan selama asistensi perkuliahan dan persiapan lainnya sebelum memulai penelitian dan penulisan tesis.

4. Bapak Prof. Arseto Yekti Bagastyo, S.T., M.T., M.Phil.,PhD, selaku Ketua Program Studi Pascasarjana yang selalu mengingatkan dan memberikan arahan pemenuhan persyaratan administrasi serta tata waktu penyelesaian tesis.
5. Bapak dan Ibu Dosen Pengampu Teknik Lingkungan yang telah memberikan materi perkuliahan selama periode perkuliahan di Teknik Lingkungan ITS.
6. Keluarga besar Limbong dan Sinambela, secara khusus untuk Agnes Carolina Sinambela (isteri) dan Riana Fellycia Limbong (anak) yang selalu mendukung dalam doa dan memberikan semangat sejak awal perkuliahan hingga penyelesaian tesis.
7. Pimpinan Perusahaan, rekan-rekan teknis di kantor dan di lapangan yang turut membantu dalam pengambilan sampel, analisis laboratorium, pengawasan rutin, pembuatan laporan dan diskusi ilmiah selama penelitian berlangsung.
8. Rekan-rekan mahasiswa Teknik Lingkungan Program Pascasarjana angkatan 2023 dan semua pihak lainnya yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari kesempurnaan, baik dari segi isi maupun penyajiannya. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan untuk perbaikan di masa mendatang. Akhir kata, semoga tesis ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya dalam bidang rekayasa lingkungan dan pengelolaan pencemaran tanah, serta menjadi referensi bagi penelitian dan praktik di masa yang akan datang.

Pekanbaru, Juli 2025

Penulis

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pencemaran minyak bumi di dalam tanah dapat menimbulkan ancaman serius bagi kesehatan manusia. Minyak bumi dapat mencapai sumber air tanah sehingga dapat mencemari air tanah yang digunakan sebagai sumber utama kebutuhan air bersih. Salah satu pencemar minyak yang sulit terurai adalah senyawa hidrokarbon. Ketika senyawa hidrokarbon mencemari permukaan tanah, zat tersebut dapat menguap, terhanyut oleh air hujan, dan masuk ke dalam tanah, kemudian mengendap sebagai zat beracun yang dapat mengganggu ekosistem tanah dan siklus air tanah (Qomaruddin et al., 2024). Kontaminan hidrokarbon minyak bumi yang ditemukan di tanah dan air dapat menimbulkan dampak lingkungan yang signifikan dan menimbulkan bahaya besar bagi manusia dan makhluk hidup lain di lingkungan yang tercemar serta mengakibatkan berbagai masalah lingkungan, bencana ekologi, dan bencana secara global (Ossai et al, 2020). Sebaran kontaminasi hidrokarbon yang ditemukan berasal dari limbah kegiatan eksplorasi dan produksi minyak bumi.

Dampak lingkungan yang terjadi berkaitan dengan kegiatan paska operasi terdahulu, seperti limbah sumur pemboran, fasilitas produksi yang sudah tidak dioperasikan lagi beberapa waktu yang silam. Mengacu kepada Peraturan Pemerintah (PP) Nomor 22 Tahun 2021 lampiran IX, limbah minyak bumi termasuk ke dalam kategori limbah bahan berbahaya dan beracun (B3). Sebaran lahan terkontaminasi ini berupa tanah terkontaminasi minyak (TTM) bumi yang berada di permukaan dan kedalaman tanah. Lokasi lahan terkontaminasi minyak bumi telah diidentifikasi dalam uji tuntas lingkungan hidup (*environmental due diligence*). Metodologi pengambilan data untuk sebaran dan nilai *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH) di masing-masing lokasi tercemar mengacu kepada hasil survey lapangan diantaranya *survey* delineasi, *survey* geologi dan hidrogeologi serta pengeboran sampel tanah dan air tanah yang telah analisa di laboratorium.

Secara alamiah, lingkungan memiliki kemampuan untuk mendegradasi senyawa pencemar yang masuk ke dalamnya melalui proses biologis dan kimiawi, namun seringkali beban pencemaran di lingkungan lebih besar daripada kecepatan proses degradasi alami zat pencemar tersebut sehingga zat-zat pencemar akan semakin menumpuk sehingga diperlukan campur tangan manusia dengan teknologi yang ada untuk mengatasi pencemaran tersebut (Qomaruddin et al., 2024).

Pelaksanaan pengelolaan tanah terkontaminasi minyak bumi dilakukan setelah mendapatkan persetujuan dokumen Rencana Pemulihan Lingkungan Hidup (RPFLH) oleh Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan (KLHK), yang mengacu kepada Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan Nomor P.101/MENLHK/SETJEN/KUM.1/11/2018 tentang pedoman pemulihan lahan terkontaminasi limbah B3. Dokumen RPFLH menjadi dasar pelaksanaan pemulihan lahan terkontaminasi limbah B3. Terdapat beberapa metode atau teknologi yang tertuang dalam dokumen RPFLH diantaranya bioremediasi, *soil washing*, fitoremediasi atau metode lain yang sesuai dengan perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. percepatan waktu pemulihan dalam degradasi TPH untuk mencapai tingkat keberhasilan parameter Petroleum Hydrocarbon (PH) \leq TK-B 0,5%
2. perlakuan variasi bakteri dalam bioaugmentasi
3. perlakuan variasi rasio C:N:P dalam proses biostimulasi

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah dikemukakan, maka tujuan penelitian adalah sebagai berikut:

1. waktu degradasi TPH tercepat untuk memenuhi parameter keberhasilan

2. pencampuran variasi jenis bakteri *indigenous* (bakteri yang tersedia secara alami di tanah tercemar) dan bakteri *non-indigenous* (hasil kultur bakteri)
3. penambahan nitrogen dengan variasi rasio C:N:P 100:5:1 dan 100:10:1

1.4 Ruang Lingkup

Ruang lingkup pada penelitian ini adalah:

1. Jenis limbah B3 yang digunakan adalah tanah terkontaminasi minyak bumi yang berasal dari salah satu lokasi tambang sumur pemboran minyak bumi dengan TPH awal penelitian yang tersedia di fasilitas pengolahan adalah TPH 3% dan 5%
2. Teknologi remediasi yang dipilih adalah bioremediasi dengan metode bioaugmentasi dan biostimulasi yang dilakukan secara *ex-situ*
3. Lokasi penelitian dilakukan di fasilitas pengolahan limbah B3 berizin
4. Durasi penelitian dilakukan lebih kurang 30 - 60 hari
5. Material biostimulasi menggunakan nutrisi berupa pupuk urea sebagai sumber N dan pupuk SP-36 sebagai sumber fosfor yang tersedia di pasaran Material bioaugmentasi menggunakan *biological agent* berupa bakteri *indigenous* yang tersedia secara alami di tanah tercemar, dan bakteri *non-indigenous* hasil kultur bakteri luar dengan rasio 1 liter bakteri : 1 m³ tanah terkontaminasi minyak, dengan pencampuran 1 liter bakteri : 10 liter air
6. Volume tanah terkontaminasi minyak bumi untuk penelitian yang dilakukan di SBF sekitar 4,8 m³ dengan ukuran 4m x 4m x 0,3m untuk masing-masing variasi perlakuan
7. Variabel pengukuran biostimulasi yang digunakan adalah rasio C: N: P 100:10:1 dan 100:5:1
8. Parameter pengukuran sampling dan analisa lab untuk TPH, TPC, pH, T dan kelembaban. Pengukuran TPH menggunakan gravimetri, pengukuran pH menggunakan pH *meter*; pengukuran suhu menggunakan *thermometer*, pengukuran total koloni bakteri menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) dan pengukuran kelembaban dengan *soil moisture meter*. Pengukuran dilakukan

1x dalam 1-2 minggu, kecuali untuk TPC yang dilakukan di awal dan di akhir pengolahan

9. Parameter keberhasilan yang digunakan dalam penelitian adalah Total Konsentrasi (TK) *Petroleum Hydrocarbon* (PH) Rantai Panjang (C10 – C36) dengan nilai keberhasilan $PH \leq TK-B 0,5\%$

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat setelah penelitian dilakukan adalah pemilihan metode yang tepat untuk percepatan penyelesaian pemulihan tanah terkontaminasi minyak bumi agar tercapai pemenuhan baku mutu yang dipersyaratkan untuk mendapatkan SSPLT (Surat Status Penyelesaian Lahan Terkontaminasi)

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 State of the art (SOTA)

SOTA dalam penelitian ini merujuk kepada tinjauan terkini dan paling mutakhir dari penelitian, teknologi, atau pendekatan ilmiah yang sudah ada dan relevan dengan topik penelitian yang dilakukan. Bioremediasi telah menjadi salah satu pendekatan yang banyak dikembangkan untuk menangani tanah terkontaminasi minyak bumi, terutama melalui pemanfaatan mikroorganisme yang memiliki kemampuan mendegradasi hidrokarbon secara alami. Penelitian-penelitian terdahulu telah menunjukkan bahwa mikroorganisme seperti *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp., *Acinetobacter* sp., dan *Rhodococcus* sp. berperan penting dalam memetabolisme fraksi hidrokarbon kompleks menjadi senyawa sederhana yang tidak toksik (Das & Chandran, 2011; Bezza & Chirwa, 2016).

Penelitian oleh Atlas & Bartha (1998) menunjukkan bahwa populasi mikroba indigenous sebesar 10^6 – 10^7 CFU/g tanah dapat memulai proses degradasi hidrokarbon secara alami tanpa perlakuan tambahan. Namun, efektivitas degradasi hidrokarbon sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, termasuk ketersediaan nutrisi. Oleh karena itu, pendekatan biostimulasi melalui penyesuaian rasio nutrisi C:N:P menjadi penting untuk mendukung aktivitas metabolik mikroba. Das & Chandran (2011) dan Tyagi et al. (2011) menyatakan bahwa rasio C:N:P optimal sebesar 100:10:1 menjadi standar dalam banyak penelitian untuk mendukung laju degradasi TPH secara signifikan. Beberapa studi terbaru mulai mengeksplorasi rasio nutrisi yang lebih rendah, seperti C:N:P 100:5:1, untuk menguji efisiensi metabolisme mikroba dalam kondisi keterbatasan nitrogen dan fosfor (Bezza & Chirwa, 2024). Studi tersebut menunjukkan bahwa meskipun terjadi penurunan aktivitas enzimatik, mikroorganisme tertentu masih dapat mempertahankan kapasitas degradasi dengan menyesuaikan strategi metabolisme. Pada penelitian Rima (2018), bioremediasi skala laboratorium pada solar dengan variasi menunjukkan rasio C:N:P 100:5:1 memberikan hasil degradasi TPH tertinggi.

Beberapa gap yang belum banyak dibahas diantaranya efektivitas rasio nutrisi 100:5:1 pada kondisi TPH rendah, bungan kuantitatif antara $\Delta \log_{10}$ populasi mikroba dan laju degradasi TPH terhadap waktu, serta perbandingan kapasitas metabolik antara bakteri indigenous dan bakteri campuran terhadap ketahanan dan aktivitas enzimatis. Beberapa perbandingan hasil penelitian sebelumnya dirangkum dalam table 2.1

Tabel 2.1 Perbandingan hasil penelitian sebelumnya (dokumentasi dari penelitian terdahulu)

No.	Peneliti / Tahun	Mikroorganisme	Metode	Rasio C:N:P	Kadar TPH Awal	Durasi	Hasil Utama
1	Das & Chandran (2011)	<i>Pseudomonas sp.</i> , <i>Acinetobacter sp.</i>	Bioaugmentasi + Biostimulasi	100:10:01	5%	30 hari	Efisiensi degradasi >70%; peran utama enzim oksigenase; rasio nutrisi mendukung sintesis enzim.
2	Bezza & Chirwa (2016)	Konsorsium bakteri campuran	Bioaugmentasi	100:10:1 dan 100:5:1	3% dan 5%	28 hari	Degradasi C lebih tinggi pada konsorsium indigenous; 100:5:1 efektif pada TPH rendah.
3	Silva-Castro et al. (2013)	Mikroba indigenous tanah tercemar	Biostimulasi	Tidak disebutkan	4%	60 hari	Mikrobiota asli bertahan lebih baik; tanpa penambahan bakteri hasil degradasi tetap signifikan.
4	Tyagi et al. (2011)	<i>Rhodococcus</i> , <i>Sphingomonas</i> , <i>Mycobacterium</i>	Bioaugmentasi	100:10:01	>5%	42 hari	Kompetisi mikroba eksogen-indigenous menurunkan efektivitas; konsistensi degradasi tidak stabil.
5	García et al. (2017)	Campuran strain bakteri	Bioaugmentasi	100:10:01	3%	30 hari	$\Delta \log_{10} > 0,5$ menunjukkan sinergi antarmikroba; korelasi langsung terhadap TPH removal >60%.
6	Meckenstock et al. (2015)	Anaerob (sulfate-reducing & methanogens)	Bioremediasi anaerobik	Tidak relevan	>5%	90 hari	Proses lambat namun efektif di lingkungan anaerob; bioavailabilitas menjadi pembatas utama.
7	Atlas & Bartha (1998)	Mikrobiota asli	Natural attenuation	Tidak ditentukan	<1%–10%	>3 bulan	Populasi 10^6 – 10^7 CFU/g dapat menurunkan TPH secara bertahap tanpa input eksternal.
8	Vidali (2001)	Umum (review)	Bioremediasi in general	100:10:1 (umum)	Variatif	Variatif	Nutrien, suhu, dan kelembaban adalah kunci utama efektivitas degradasi hidrokarbon.
9	Rima (2018)	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Pseudomonas putida</i>	Bioaugmentasi + Biostimulasi pada solar	100:10:1 dan 100:5:1	Variatif	15 hari	Rasio C:N:P 100:5:1 menunjukkan degradasi TPH terbesar

2.2 Limbah Bahan Berbahaya dan Beracun

Minyak bumi adalah hasil proses alami berupa hidrokarbon yang dalam kondisi tekanan dan atmosfer berupa fasa cair atau padat, termasuk aspal, lilin mineral atau ozokerit, dan bitumen yang diperoleh dari proses penambangan, tetapi

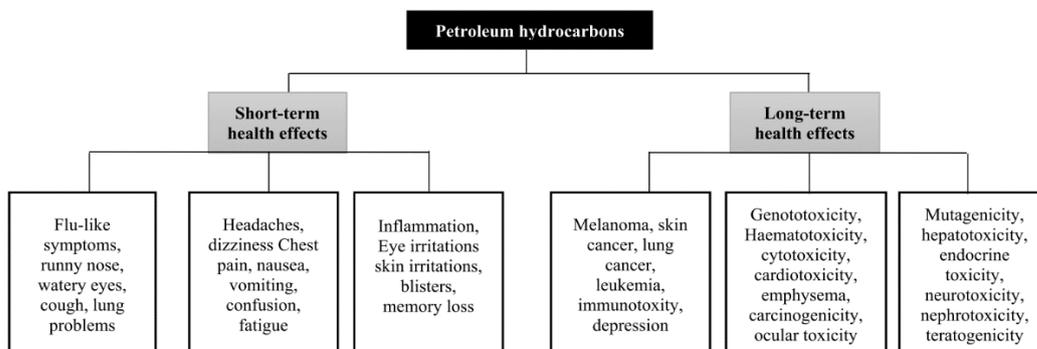
tidak termasuk batubara atau endapan hidrokarbon lain yang berbentuk padat yang diperoleh dari kegiatan yang tidak berkaitan dengan kegiatan usaha minyak dan gas bumi (Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan, 2018)

Limbah adalah sisa suatu usaha dan/atau kegiatan. Bahan berbahaya dan beracun yang selanjutnya disingkat B3 adalah zat, energi, dan/atau komponen lain yang karena sifat, konsentrasi, dan/atau jumlahnya, baik secara langsung maupun tidak langsung, dapat mencemarkan dan/atau merusak lingkungan hidup, dan/atau membahayakan lingkungan hidup, serta kelangsungan hidup manusia dan makhluk hidup lain. Limbah B3, adalah sisa suatu usaha dan/atau kegiatan yang mengandung B3 (Undang-Undang Nomor 32, 2009). Limbah yang dihasilkan oleh minyak bumi adalah senyawa mengandung zat kontaminan (hidrokarbon) yang dikategorikan sebagai Limbah B3.

2.2 Hidrokarbon sebagai limbah B3 minyak bumi

Keberadaan kontaminan hidrokarbon minyak bumi di lingkungan tanah dan air menimbulkan dampak lingkungan yang signifikan dan menimbulkan bahaya besar bagi manusia dan makhluk hidup lain di lingkungan yang tercemar (Sammarco et al.,2016). Kontaminan hidrokarbon besar tahan lama dan stabil, sehingga bertahan lama di lingkungan dan tidak mudah mengalami degradasi sehingga mengakibatkan berbagai masalah lingkungan, bencana ekologi, dan bencana secara global (Ossai et al.,2020). Di dalam tanah, hidrokarbon minyak bumi dapat mempengaruhi sifat fisik tanah, seperti tekstur tanah, pemadatan, status struktur, ketahanan penetrasi, konduktivitas hidrolik jenuh, dan sifat kimia tanah seperti konsentrasi dan kandungan mineral dan logam berat (Hreniuc et al.,2015). Tanah yang terkontaminasi hidrokarbon minyak bumi merupakan salah satu masalah polusi yang paling umum yang dapat disebabkan karena proses produksi, penyimpanan, dan pemanfaatan minyak bumi (Li et al.,2023). Sekitar 2 kg polutan hidrokarbon minyak bumi dilepaskan ke lingkungan untuk setiap 1 ton minyak yang dihasilkan dan dimurnikan (Li et al.,2024). Kontaminan hidrokarbon dapat

menyebabkan dampak jangka pendek dan jangka (Ossai et al.,2020), ditampilkan pada Gambar 2.1



Gambar 2. 1 Dampak Kontaminan Hidrokarbon (Ossai et al.,2020)

Di Indonesia, minyak bumi yang berhasil dieksplorasi banyak mengandung senyawa hidrokarbon dan kadar belerangnya sangat rendah. Persentase komposisi utama minyak bumi adalah 80 – 89% karbon, 12 – 14%, 2 – 3% oksigen, 0 – 3% sulfur, dan 0,3 – 1% nitrogen. Selain itu, minyak bumi juga mengandung pengotor Cl, Ni, Mo, Fe, Na, dan unsur-unsur lain yang mempunyai sifat fisika dan kimia yang bervariasi, tergantung pada asal minyak bumi tersebut (Nugroho, 2006). Kandungan senyawa hidrokarbon dalam crude oil dapat diklasifikasikan sebagai hidrokarbon alifatik, sikloalkana, dan hidrokarbon poli-aromatik (Ali, 2012):

1. Hidrokarbon alifatik.

Cincin atom karbon dari hidrokarbon alifatik tersusun secara linier, bercabang, atau melingkar tertutup (alissiklik). Alifatik juga terbagi menjadi beberapa golongan, yaitu:

- a. Alkana yang memiliki ikatan atom C jenuh. Alkana adalah hidrokarbon alifatik jenuh berikatan dan stabil terhadap reaksi kimia dengan rumus empiris C_nH_{2n+2} . Alkana merupakan petroleum hidrokarbon yang sangat mudah terdegradasi. Namun alkana pada range C5 hingga C10 merupakan penghambat dalam proses degradasi hidrokarbon. Pada konsentrasi tinggi, senyawa ini bersifat toksik yaitu mampu merobek lipid pada sel mikroorganisme.
- b. Alkena (olefin) adalah hidrokarbon alifatik tak jenuh yang memiliki minimal satu ikatan rangkap 2 dengan rumus empiris C_nH_{2n} .

c. Alkana adalah hidrokarbon alifatik tak jenuh yang memiliki minimal satu ikatan rangkap 3 dengan rumus empiris C_nH_{2n-2}

2. Senyawa Sikloalkana.

Sikloalkana adalah hidrokarbon alisiklik (cincin siklis) tunggal dan banyak dengan rumus empiris C_nH_{2n} . Senyawa ini sangat stabil namun lebih reaktif daripada alkana. Sebagaimana pada senyawa alkana, semakin besar jumlah atom C semakin tinggi pula Sg (*specific gravity*) dan titik didihnya. Degradasi sikloalkana biasanya juga dioksidasi pada gugus terminal metil dan menjadi alkohol.

3. Senyawa Aromatik.

Menurut Cookson (1995), cincin benzene hidrokarbon banyak terkandung dalam hidrokarbon aromatik. Contohnya adalah benzena, toluena, etilbenzena, dan xilena yang sering disebut sebagai senyawa BTEX. Senyawa hidrokarbon aromatik sulit didegradasi dan dapat menghasilkan senyawa intermediate yang tidak diinginkan. Metode dasar penyerangan mikroba pada komponen aromatik bercincin tunggal membentuk senyawa dihidrodiol. Dihidrodiol dioksidasi membentuk alkil katekol yang merupakan senyawa intermediate. Hasil oksidasi pemecahan cincin adalah terbentuknya aldehyd serta asam yang siap digunakan mikroorganisme untuk sintesa sel dan energi.

4. Senyawa Poli Aromatik

Senyawa poli aromatik disebut juga dengan *polycyclic aromatic hydrocarbon* (PAH) yang terdiri dari beberapa senyawa aromatik yang menyatu, misalnya naftalena, asenaftena, dan fluorena. PAH bersifat karsinogenik, semakin banyak jumlah molekul aromatik yang menyatu maka senyawa PAH ini semakin sulit terurai.

2.3 Total petroleum hydrocarbon (TPH)

TPH merupakan penjumlahan senyawa hidrokarbon yang dapat diidentifikasi dalam minyak bumi (US EPA, 2023). Mengacu Peraturan Menteri Lingkungan

Hidup dan Kehutanan No. P.101/MENLHK/SETJEN/KUM.1/11/2018, nilai TPH merupakan salah satu parameter yang akan diuji untuk menentukan keberhasilan pemulihan untuk:

- a. Total Konsentrasi Petroleum Hydrocarbon (PH) untuk rantai pendek ($C_6 - C_9$)
- b. Total Konsentrasi Petroleum Hydrocarbon (PH) untuk rantai panjang ($C_{10} - C_{36}$)

2.4 Lahan terkontaminasi limbah B3

Mengacu kepada Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan No. P.101/MENLHK/SETJEN/KUM.1/11/2018 Bab I Pasal 1, yang dimaksud dengan Lahan Terkontaminasi Limbah B3 adalah lahan yang terpapar Limbah B3 dan/atau lahan yang berdasarkan hasil uji karakteristik terhadap sampel tanah dari lahan tersebut menunjukkan bahwa lahan tersebut mengandung zat kontaminan yang dikategorikan Limbah B3. Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan No. P.101/MENLHK/SETJEN/KUM.1/11/2018 Bab II Pasal 1 menyatakan bahwa setiap orang yang menghasilkan Limbah B3, Pengumpul Limbah B3, Pengangkut Limbah B3, Pemanfaat Limbah B3, Pengolah Limbah B3, Penimbun Limbah B3 dan/atau yang melakukan *Dumping* (pembuangan) Limbah B3 yang menyebabkan pencemaran lingkungan hidup dan/atau perusakan lingkungan hidup pada lahan, wajib melaksanakan pemulihan Lahan Terkontaminasi Limbah B3. Skala lahan terkontaminasi dalam Bab II Pasal 8 Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan No. P.101/MENLHK/SETJEN/KUM.1/11/2018 dilakukan dengan beberapa kriteria, yaitu:

- a. skala kecil, jika:
 - i. luas lahan kontaminasi < 9 m² (kurang dari atau sama dengan 10 meter persegi)
 - ii. kedalaman lahan kontaminasi $< 1,5$ m (kurang dari atau sama dengan satu setengah meter)

- iii. jenis Limbah B3 termasuk dalam kategori 2 atau hasil uji identifikasi zat kontaminan menunjukkan tanah terkontaminasi wajib dikelola sesuai dengan pengelolaan Limbah B3 kategori 2
- b. skala besar, jika lahan terkontaminasi limbah B3 memenuhi kriteria selain sebagaimana dimaksud pada huruf a.

2.5 Metode pemulihan lahan terkontaminasi limbah B3

Metode pemulihan lahan terkontaminasi meliputi pengelolaan kontaminan menggunakan proses kimia, fisika, biologi dan/atau cara lain sesuai perkembangan teknologi. Mengacu kepada Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan No. P.101/MENLHK/SETJEN/KUM.1/11/2018, Bab II Pasal 10 disebutkan metode pemulihan lahan terkontaminasi limbah B3 dapat dilakukan dengan cara:

1. di luar lokasi, dengan memindahkan media lingkungan yang terkontaminasi; dan/atau
2. pada lokasi, tanpa memindahkan media lingkungan yang terkontaminasi

Dalam hal metode pemulihan diterapkan di luar lokasi, tanah pada lahan terkontaminasi limbah B3 wajib diberikan kode dalam manifes dan logbook, dengan ketentuan:

- a. K1, jika terdapat salah satu parameter pada tanah terkontaminasi Limbah B3 yang masuk pengelolaan Limbah B3 kategori 1
- b. K2, jika terdapat salah satu parameter pada tanah terkontaminasi Limbah B3 dengan konsentrasi zat kontaminan yang masuk dalam pengelolaan Limbah B3 kategori 2
- c. K3, jika terdapat salah satu parameter pada tanah terkontaminasi Limbah B3 dengan konsentrasi zat kontaminan lebih besar dari konsentrasi parameter yang sama pada titik referensi.

2.6 Teknologi remediasi lahan terkontaminasi minyak bumi

Remediasi adalah suatu proses yang dirancang untuk memperbaiki atau menghentikan kerusakan lingkungan, untuk mengurangi risiko terhadap manusia dan lingkungan ke tingkat yang dapat diterima (*National Remediation Framework, 2019*). Mengacu kepada Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan No 6, Bab VII Pasal 124, disebutkan salah satu cara pengolahan limbah B3 adalah dengan bioremediasi.

2.7 Bioremediasi

Bioremediasi adalah suatu proses yang memanfaatkan spesies mikroba seperti bakteri, jamur, alga, dan lain-lain. Teknologi bioremediasi mempercepat proses alami degradasi bahan kimia beracun untuk menyediakan strategi pembersihan yang lebih baik untuk berbagai jenis polutan. Ini adalah proses yang ramah lingkungan dan hemat biaya untuk menghilangkan hidrokarbon yang ada di tanah yang terkontaminasi (Sravva et al.,2022)

Teknik bioremediasi bertujuan untuk menghilangkan kontaminan melalui mikroorganisme yang menggunakan kontaminasi sebagai sumber makanan dan energi untuk perkembangan dan pertumbuhan. Teknik ini melibatkan penyesuaian kondisi tanah (terutama oksigen, kelembaban, nutrisi, suhu, dan pH) untuk mendukung pertumbuhan dan aktivitas mikroorganisme yang akan mendegradasi kontaminan (*National Remediation Framework, 2019*). Penggunaan mikroorganisme dari lokasi kontaminasi sangat ideal untuk bioremediasi, meskipun mikroorganisme dari lingkungan lain juga dapat digunakan. Tindakan kolaboratif di antara beberapa *strain* mikroorganisme, yang membentuk konsorsium, sering kali diperlukan untuk memecah polutan secara efektif (Stanojevic et al.,2023).

Bioremediasi dianggap sebagai proses yang bersih, ramah lingkungan, dan hemat biaya untuk mencapai keberhasilan di antara beberapa teknologi yang lainnya untuk mengurangi polusi bahan bakar fosil (Patowary et al., 2023). Dengan bioremediasi maka kondisi lingkungan dipulihkan dengan memanfaatkan aktivitas

biologis mikroorganisme untuk mengurangi tingkat toksisitas senyawa pencemar (Qomaruddin et al., 2024). Dibandingkan dengan metode lainnya seperti insinerasi, solidifikasi, thermal desorpsi, dan pencucian maka biaya yang dikeluarkan untuk bioremediasi jauh lebih murah (Alvarez et al., 2006). Pengolahan Limbah B3 dengan cara bioremediasi sebagaimana dimaksud Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan No 6 Tahun 2021 Pasal 140 dilakukan terhadap:

- a. Limbah B3 memiliki konsentrasi Total Petroleum Hydrocarbon (TPH) paling tinggi 15% (lima belas persen)
- b. Dalam hal Limbah B3 memiliki konsentrasi Total Petroleum Hydrocarbon (TPH) lebih tinggi dari 15% (lima belas persen), Limbah B3 harus dilakukan pengolahan awal (pre-treatment) untuk menurunkan konsentrasi TPH hingga memenuhi ketentuan sebagaimana dimaksud pada huruf a sebelum dilakukan pengolahan dengan cara bioremediasi
- c. Hasil uji logam berat memenuhi baku mutu lebih kecil dari atau sama dengan TCLP-B sebagaimana tercantum dalam Lampiran XIII Peraturan Pemerintah Nomor 22 Tahun 2021 tentang Penyelenggaraan Perlindungan dan Pengelolaan Lingkungan Hidup (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2021 Nomor 32, Tambahan Lembaran Negara Republik Indonesia Nomor 6634)

Prosedur Pengolahan Limbah B3 dengan cara bioremediasi dilaksanakan dengan memenuhi ketentuan Pasal 144 PERMEN LHK No 6 Tahun 2021, sebagai berikut:

- a. dilakukan dipermukaan tanah pada kondisi aerob
- b. mencampur bahan pencampur dengan limbah B3 yang akan diolah dengan perbandingan 1:1 (satu berbanding satu) dari volume Limbah B3 yang akan diolah;
- c. pencampuran bahan penggembur antara 10% (sepuluh persen) sampai dengan 15% (lima belas persen) dari volume Limbah B3 yang akan diolah
- d. proses pengolahan dilakukan dengan pemberian oksigen melalui pipa dan/atau pengadukan *manual*
- e. menghamparkan Limbah B3 di fasilitas Pengolahan dengan ketinggian paling tinggi 30 cm (tiga puluh sentimeter)

- f. mempertahankan nilai kadar air optimum limbah yang diolah antara 15% (lima belas persen) hingga 25% (dua puluh lima persen)
- g. pengaturan pH optimum hingga mendekati pH netral
- h. penambahan zat makanan atau unsur hara

Secara umum, terdapat 2 jenis teknologi bioremediasi yaitu bioremediasi secara *in-situ* dan *ex-situ*. *In-situ* dilakukan tanpa penggalian dan transportasi tanah terkontaminasi, efektif hingga kedalaman 30–60 cm karena lapisan yang lebih dalam mengalami ketersediaan oksigen. *Ex-situ* dilakukan dengan penggalian, pengangkutan, pengolahan dan penimbunan kembali tanah (Sravya et al., 2022). Menurut Qomaruddin et al. (2024) terdapat dua pendekatan yang dapat digunakan dalam bioremediasi tumpahan minyak bumi, dengan biostimulasi dan bioaugmentasi.

2.8 Biostimulasi

Biostimulasi, yaitu melakukan stimulasi pertumbuhan pengurai hidrokarbon asli dengan cara menambahkan unsur hara atau memperbaiki habitat lingkungan sehingga pertumbuhannya menjadi lebih optimal (Qomaruddin et al., 2024). Biostimulasi membantu meningkatkan proses biodegradasi dengan menyediakan nutrisi yang diperlukan dan memodifikasi kondisi lingkungan (Mokrani et al., 2024). Pada penelitian Rima (2018), dilakukan penelitian bioremediasi skala laboratorium pada solar dengan variasi penambahan *nutrient* C:N:P 100:10:1 dan 100:5:1. Hasil penelitian menunjukkan rasio C:N:P 100:5:1 memberikan hasil degradasi TPH tertinggi. Menurut (Ouriache et al., 2020), yang melakukan penelitian pada *petroleum hydrocarbon contaminated soil*, efisiensi biodegradasi tertinggi dengan rasio C:N:P yang optimal adalah 100:10:1. Pada penelitian ini, biostimulasi tanah yang tercemar hidrokarbon dengan menekankan pada penambahan pupuk kimia sebagai sumber nutrisi dengan perbandingan konsentrasi rasio C:N:P 100:10:1 dan C:N:P 100:5:1

2.9 Bioaugmentasi

Bioaugmentasi, yaitu penambahan mikroorganisme pengurai senyawa hidrokarbon untuk melengkapi populasi mikroba yang ada (Qomaruddin et al., 2024). Bioaugmentasi merupakan mekanisme biodegradasi melibatkan kemampuan mikroorganisme untuk menguraikan hidrokarbon sebagai sumber energi (Lawniczak et al., 2020). Bioaugmentasi merupakan salah satu metode yang hemat biaya dan ramah lingkungan untuk menangani polutan berbahaya. Biodegradasi efektif terjadi antara hari ke-15 dan ke-30 bioaugmentasi, dan efisiensi biodegradasi mencapai 96,5% setelah 60 hari di tanah yang terkontaminasi minyak 1%. (Li et al., 2024). Berdasarkan proses bioaugmentasi, penggunaan mikroba lebih disukai karena memiliki kemampuan beradaptasi yang baik terhadap lingkungan baru dan telah teraklimatisasi untuk proses bioremediasi (Suja et al., 2014). Konsorsium bakteri terpilih mampu mendegradasi hidrokarbon secara efektif di tanah yang tercemar hidrokarbon dalam waktu singkat (Muthukumar et al., 2022)

2.10 Faktor–Faktor Yang Berpengaruh Dalam Bioremediasi

Mikroorganisme memiliki keterbatasan dalam mendegradasi kontaminan (Sravya et al., 2022). Beberapa faktor yang mempengaruhi bioremediasi, diantaranya

1. Kadar Oksigen

Menurut Atlas dan Bartha (1985) oksigen sangat penting dalam degradasi hidrokarbon karena jalur utama untuk hidrokarbon jenuh maupun aromatik melibatkan molekul oksigen atau oksigenase. Secara perhitungan teori, 3,5gram dari hidrokarbon dapat dioksidasi dengan setiap gram oksigen yang hadir. Sejumlah oksigen dibutuhkan untuk degradasi aerobik karena prinsip reaksi adalah oksidasi-reduksi dengan oksigen sebagai elektron penerima (Baker dan Herson, 2000).

2. Kelembaban

Kelembaban yang optimum untuk bioremediasi tanah adalah sekitar 80% atau 15% air dari berat kelembaban yang tidak mencukupi misalnya kurang dari 40%, dapat mengurangi laju bioremediasi. Sedangkan bioremediasi bahan bakar minyak dan sejenisnya, membutuhkan kelembaban sekitar 50%. Kelembaban tanah di atas 70% dapat mengganggu transfer gas untuk oksigen sehingga mengurangi aktifitas aerobik (Cookson, 1995).

3. Nilai pH

Tingkat keasaman (pH) merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi laju pertumbuhan mikroba. Kebanyakan bakteri pendegradasi hidrokarbon dapat tumbuh dengan baik pada kisaran pH netral (6,5-7,5). Tingkat keasaman pH dapat berubah selama pertumbuhan mikroba. Peningkatan pH dapat terjadi oleh adanya proses reduksi nitrat membentuk amonia atau gas nitrogen, sedangkan penurunan pH terjadi apabila terbentuk asam-asam organik dari hasil proses fermentasi. Mikroorganisme pada umumnya tumbuh dengan baik pada pH antara 6,0-8,0. pH optimum untuk proses biodegradasi hidrokarbon di lingkungan tanah adalah pH 7,8 (Cookson, 1995).

4. Suhu

Suhu merupakan faktor lingkungan yang mempengaruhi biodegradasi senyawa hidrokarbon. Terutama terhadap proses metabolisme dan laju pertumbuhan bakteri. Suhu yang optimal untuk degradasi adalah 30-40 C. Berdasarkan suhu lingkungan mikroorganisme dikelompokkan menjadi tiga, yaitu psikofilik untuk golongan mikroorganisme yang memerlukan suhu optimum antara 5-15 C, mesofilik untuk golongan mikroorganisme yang memerlukan suhu optimum antara 25-50 C, dan termofilik untuk golongan mikroorganisme yang memerlukan suhu optimum antara 45-60 C (Fahrudin, 2014).

5. Nutrisi

Nugroho (2006) menyebutkan bahwa metabolisme mikroba tidak akan terjadi tanpa nitrogen. Nitrogen ditemukan pada protein, enzim, dan asam nukleat dari mikroba. Unsur C merupakan unsur utama yang berperan dalam penyusunan sel-sel bakteri. Sedangkan unsur P berperan dalam pembentukan asam nukleat dan

fosfolipid. Kebutuhan karbon berbanding nitrogen adalah 10:1 sedangkan kebutuhan karbon berbanding dengan fosfor adalah 30:1. Oleh karena itu, ketiga unsur tersebut harus dalam rasio yang tepat agar proses metabolisme mikroorganisme berjalan optimal (Fahrudin, 2014).

6. Testur Tanah

Tekstur tanah mempengaruhi permeabilitas, kelembapan dan kepadatan dari tanah. Untuk meyakinkan bahwa penambahan oksigen, distribusi nutrisi, dan kelembapan tanah dapat berlangsung dalam rentang yang tepat, maka tekstur tanah harus diperhatikan. Misalnya, tanah lempung sangat sulit diaerasi dan mengakibatkan rendahnya oksigen. Selain itu, kesulitan juga terjadi untuk mendistribusikan nutrisi secara seragam dan menahan air untuk masuk ke dalam tanah (presipitasi). Penambahan bulking seperti jerami perlu dicampurkan ke dalam tanah selama konstruksi bioremediasi untuk menambah pori-pori atau rongga (EPA, 1999).

7. Bakteri

Agen biologis yang digunakan untuk bioremediasi diantaranya adalah bakteri, archaea, dan jamur. Dalam proses bioremediasi, mikroorganisme secara khusus memecah polutan dan mengubahnya menjadi bentuk unsur dan senyawa yang tidak beracun. Sebagian besar penelitian fokus pada proses bioremediasi yang dilakukan oleh domain bakteri. Nugroho (2006) menyatakan bakteri yang dapat memanfaatkan hidrokarbon tersebar luas di lingkungan dan mulai membelah diri ketika berada pada kondisi yang sesuai. Proses pembelahan diri pada lingkungan alami memerlukan waktu. Untuk itu, penambahan jumlah bakteri pada tumpahan minyak mempercepat proses degradasi dari minyak bumi dan tempat yang paling baik untuk menemukan mikroba pendegradasi minyak bumi adalah dari tumpahan minyak itu sendiri.

Pengukuran jumlah populasi bakteri dihitung dengan analisa *Total Plate Count* (TPC). Nilai TPC menunjukkan populasi mikroorganisme yang berkontribusi terhadap proses penguraian hidrokarbon. Nilai TPC untuk mengevaluasi efektivitas aktivitas biodegradasi oleh mikroorganisme dalam pemulihan tanah yang terkontaminasi minyak bumi. Peningkatan jumlah koloni bakteri selama periode

waktu tertentu menunjukkan aktivitas mikroba yang meningkat, yang mengindikasikan terjadinya proses biodegradasi terhadap kontaminan minyak bumi. Data TPC ini digunakan sebagai salah satu indikator biologis untuk menilai keberhasilan proses remediasi biologi (bioremediasi). Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Edobor et al. (2021) yang menunjukkan bahwa peningkatan TPC seiring waktu berkorelasi dengan penurunan konsentrasi TPH pada tanah terkontaminasi minyak bumi. Salah satu pendekatan kuantitatif yang digunakan untuk mengukur perubahan jumlah bakteri akibat pencampuran beberapa strain atau perlakuan adalah metode logaritmik basis 10 dari jumlah bakteri.

Menurut penelitian Singh et al., (2020), untuk mengukur populasi bakteri selama proses bioremediasi, dilakukan pendekatan perhitungan jumlah bakteri dalam satuan logaritmik $\Delta \log_{10}$. García et al., (2017) menyatakan $\Delta \log_{10}$ digunakan untuk menentukan apakah ada efek sinergis atau kompetisi antara strain yang dicampur. Menurut (Singh et al., 2020; Wang et al., 2019), $\Delta \log_{10} > 0,5$ atau setara dengan peningkatan populasi $> 3,16$ kali menunjukkan perubahan signifikan dan optimal untuk menunjang proses biodegradasi. Dengan diketahuinya angka optimal $\Delta \log_{10}$ (3,16 kali) maka dapat ditentukan berapa kali lonjakan populasi yang terbentuk, sehingga dapat diketahui juga dosis atau volume yang sesuai untuk mencapai nilai optimal.

2.11 Proses biokimia degradasi TPH

Hidrokarbon rantai sedang hingga panjang (C10–C36) merupakan komponen utama dari fraksi minyak bumi seperti diesel, kerosin, heavy fuel oil, dan residu minyak mentah. Dalam lingkungan aerobik, bakteri mampu mendegradasi senyawa ini melalui serangkaian reaksi enzimatik yang efisien, yang bertujuan memecah rantai karbon menjadi senyawa yang lebih sederhana, dengan oksigen sebagai akseptor elektron terminal, menghasilkan karbon dioksida (CO₂), air (H₂O), dan energi (ATP). Menurut penelitian Das & Chandran (2011), bioremediasi merupakan pendekatan ramah lingkungan yang memanfaatkan aktivitas mikroorganisme untuk

mendegradasi senyawa hidrokarbon tersebut melalui proses biokimia yang berlangsung secara aerobik maupun anaerobik.

Proses degradasi TPH oleh mikroorganisme melibatkan beberapa tahapan utama, sebagai berikut:

1. Bioavailabilitas

Tahap awal di mana senyawa hidrokarbon harus berada dalam bentuk yang tersedia secara hayati untuk dimetabolisme oleh mikroba. Senyawa yang teradsorpsi kuat pada partikel tanah atau berada dalam fraksi berat memiliki bioavailabilitas rendah (Meckenstock et al., 2015).

2. Adsorpsi dan transport ke sel

Mikroorganisme akan menempel pada permukaan hidrokarbon dan menyerap molekul melalui membran sel dengan bantuan enzim transport (Silva-Castro et al., 2013)

3. Aktivitas Enzimatik

Enzim seperti oksigenase dan dehidrogenase memainkan peran penting dalam tahap inisiasi, di mana hidrokarbon diaktifkan melalui penambahan gugus hidroksil (-OH), menghasilkan senyawa intermediat seperti alkohol, aldehid, dan asam karboksilat (Margesin & Schinner, 2001). Proses ini disebut oksidasi primer.

4. Metabolisme Intermediat

Senyawa intermediat kemudian masuk ke jalur metabolisme sentral seperti siklus asam sitrat (TCA cycle) untuk menghasilkan energi dan biomassa (Prince et al., 2010).

5. Produk Akhir

Proses ini akhirnya menghasilkan karbon dioksida (CO_2), air (H_2O), dan sel mikroba baru dalam kondisi aerobik, atau menghasilkan metana (CH_4) dan CO_2 dalam kondisi anaerobik (Van Hamme et al., 2003).

Dari penjelasan diatas, jalur metabolisme degradasi hidrokarbon yang menggunakan bakteri secara aerob dapat dirangkum pada Tabel 2.1

Tabel 2. 1 Jalur metabolisme degradasi hidrokarbon

Tahapan Biokimia	Deskripsi Proses	Enzim Utama	Produk Antara	Produk Akhir	Referensi
1. Aktivasi Hidrokarbon	Penambahan oksigen pada rantai hidrokarbon	Monooxygenase, Dioxygenase	Alkohol, epoksida	-	Das & Chandran (2011); Bezza & Chirwa (2016)
2. Oksidasi Intermediat	Alkohol diubah menjadi aldehida dan kemudian asam lemak atau asam karboksilat	Dehidrogenase, Oksidase	Aldehid, asam karboksilat	-	Margesin & Schinner (2001); Atlas & Bartha (1998)
3. β -Oksidasi	Pemecahan asam lemak menjadi asetil-KoA	Acyl-CoA synthetase, thiolase	Asetil-KoA	-	Van Hamme et al. (2003)
4. Siklus TCA	Asetil-KoA dimetabolisme dalam siklus Krebs untuk menghasilkan energi dan CO ₂	Enzim TCA (sitrat sintase, dll.)	NADH, FADH ₂	CO ₂ , energi	Prince et al. (2010); Tyagi et al. (2011)

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Gambaran Umum

Penelitian dilakukan untuk mengevaluasi pemulihan tanah yang terkontaminasi minyak bumi dengan cara biologis (bioremediasi) dengan metode biostimulasi, bioaugmentasi dan kombinasi keduanya. Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental skala lapangan. Kontaminan pencemar hidrokarbon yang digunakan adalah tanah terkontaminasi minyak bumi dengan TPH awal 3% dan 5%, menggunakan bakteri dengan nutrisi pupuk kimia yang tersedia di pasaran.

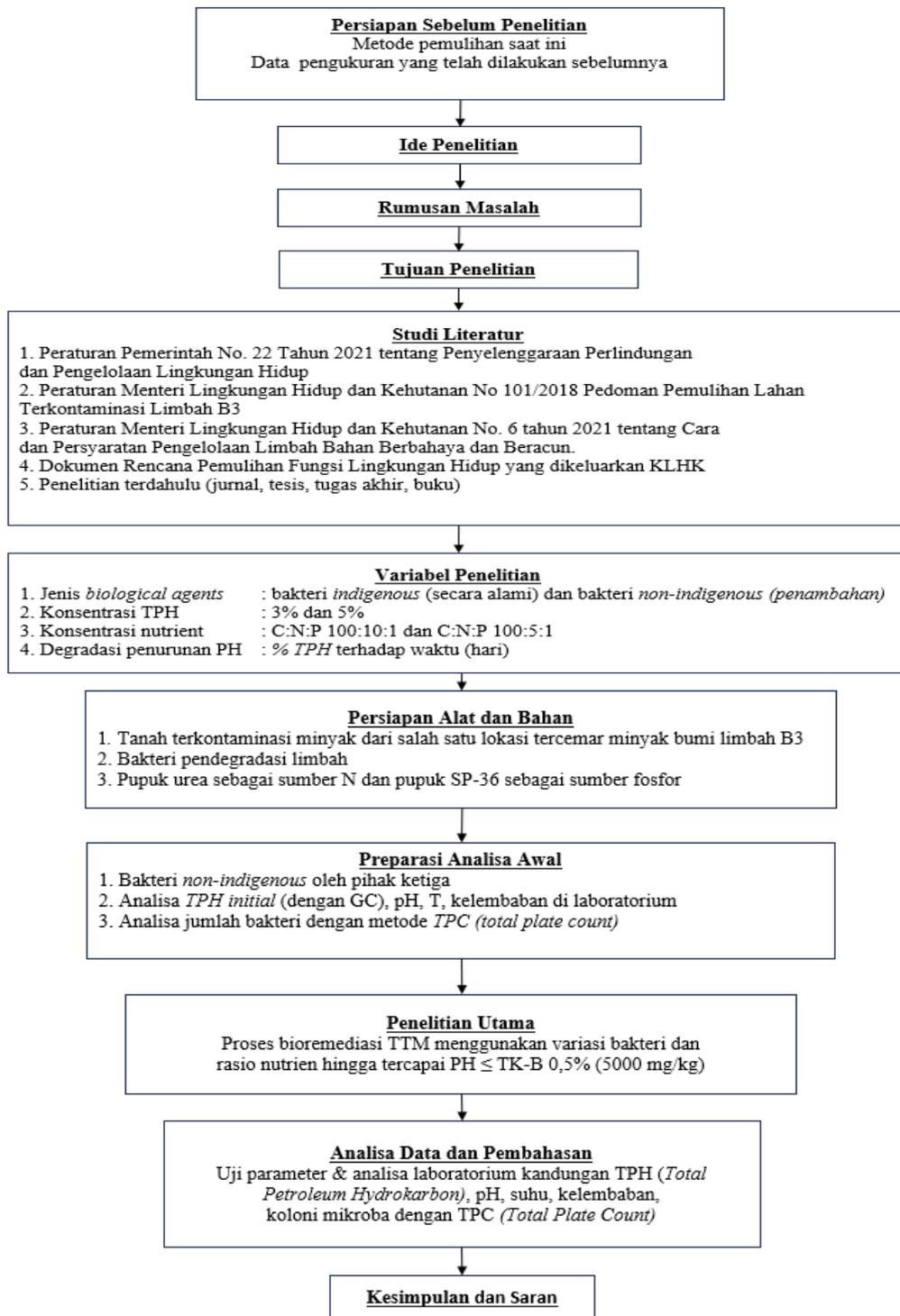
Sebelum proses penelitian dilakukan, maka terlebih dahulu dibuat suatu metode penelitian yang sistematis dengan tujuan sebagai berikut :

1. Langkah awal untuk mengetahui setiap tahapan penelitian agar pelaksanaan penelitian dan penulisan laporan tugas akhir dapat berjalan secara sistematis
2. Memudahkan untuk mengetahui hal-hal yang berkaitan dengan pelaksanaan penelitian supaya tujuan penelitian dapat tercapai
3. Menghindari terjadinya kesalahan selama proses penelitian

Penelitian ini akan dilakukan dalam beberapa tahap, yaitu perumusan ide penelitian, studi literatur, penelitian pendahuluan, persiapan material, pelaksanaan penelitian utama, analisis data dan pembahasan, serta penarikan kesimpulan dan saran.

3.2 Kerangka Penelitian

Kerangka penelitian merupakan gambaran awal tahap-tahap penelitian. Kerangka penelitian bertujuan untuk memudahkan penelitian dan penyusunan laporan serta mengetahui hal-hal yang berkaitan dengan penelitian agar tujuan penelitian dapat tercapai. Kerangka penelitian yang berupa diagram alir ditampilkan pada Gambar 3.1.



Gambar 3. 1 Kerangka Penelitian

3.3 Studi Literatur

Studi literatur dilakukan untuk mendapatkan pemahaman mengenai teknologi pengelolaan limbah hidrokarbon dengan bioremediasi untuk tanah terkontaminasi minyak bumi. Selain itu, studi literatur juga dilakukan untuk meningkatkan pemahaman mengenai metode bioremediasi yang pernah dilakukan untuk dijadikan referensi penelitian. Sumber literatur yang digunakan dalam penelitian ini meliputi jurnal ilmiah, buku-buku teks, laporan penelitian tugas akhir, serta tesis. Studi literatur dilakukan mulai dari awal sampai akhir penelitian untuk memperoleh dasar teori yang jelas dan kuat sehingga dapat melakukan analisis dan pembahasan data penelitian yang baik sehingga membantu mendapatkan kesimpulan dari hasil penelitian.

3.4 Variabel Penelitian

Penelitian akan menggunakan 3 jenis variabel, sebagai berikut:

1. Variabel Bebas
 - a. variasi bakteri *indigenous* dan *non-indigenous*
 - b. penambahan nutrisi dan rasio C:N:P. Dalam penelitian ini digunakan variasi C:N:P 100:10:1 100:5:1. Penentuan rasio C:N:P menggunakan basis penelitian sebelumnya terkait bioremediasi tanah terkontaminasi solar menggunakan variasi kultur campuran bakteri dan rasio nutrisi (Rima Nurmalasari, 2018)
 - c. tanah terkontaminasi minyak dengan TPH 3% dan 5%, menyesuaikan tanah terkontaminasi minyak bumi yang tersedia di SBF
2. Variabel Terikat, terdiri dari pH tanah yang diukur menggunakan pH meter, suhu tanah yang diukur menggunakan *thermometer*, perhitungan persentase kadar air (kelembaban) dan total koloni mikroba dengan metode *Total Plate Count (TPC)*, Analisa *total petroleum hydrocarbon (TPH)* menggunakan metode *Gas chromatography (GC)*
3. Variabel Kendali, dengan waktu yang diperlukan untuk melakukan proses bioremediasi selama 30 - 60 hari hingga tercapai nilai $PH \leq TK-B 0,5\%$

3.5 Rancangan penelitian Penelitian

1. TPH awal penelitian

Initial sampling tanah terkontaminasi minyak bumi sebelum dilakukan penelitian, menyesuaikan tanah terkontaminasi yang telah terkumpul di SBF. Sebelum tanah terkontaminasi minyak bumi dikirim ke SBF, hasil pemilahan (segregasi) *grid* di lokasi pemulihan dikelompokkan menjadi 12 *jumbo bag* dalam 1 *lot*. Selanjutnya dari masing-masing *jumbo bag* diambil 1 sample sehingga terkumpul 12 sampel yang kemudian dikompositkan menjadi 1 sampel untuk dilakukan analisa TPH di laboratorium. Setelah *jumbo bag* diterima di SBF, *jumbo bag* dengan TPH sekitar 3% dan 5% masing-masing digabung di *grid* pengumpulan yang berbeda, dan sebelum tanah terkontaminasi minyak bumi dipindah ke *grid* penelitian, dilakukan pengambilan sampel masing-masing 5 titik sampel di masing-masing *grid* pengumpulan TPH 3% dan 5%, kemudian dikompositkan dan dilakukan analisa laboratorium. Hasil analisa laboratorium awal menunjukkan bahwa tanah terkontaminasi yang akan dipulihkan adalah TPH 3,04% dan 4,97%, sehingga dalam penelitian ini digunakan pendekatan referensi TPH awal adalah 3% dan 5%.

2. Lokasi penelitian

Pada penelitian ini, bioremediasi tanah terkontaminasi minyak bumi dilakukan di salah satu fasilitas pengolahan limbah B3 berizin seperti ditampilkan pada Gambar 3.2



Gambar 3. 2 Fasilitas pengolahan limbah B3 (dokumentasi lapangan, 2025)

Penelitian yang akan dilakukan merupakan eksperimental lapangan dengan di salah satu kawasan tambang minyak bumi, yang merupakan kawasan tropis dengan rata-rata suhu lingkungan 25-35° C, kelembaban 75-80% dan pH 6-8. Tanah tercemar telah terkontaminasi minyak bumi lebih dari 50 tahun.

3. Matriks penelitian

Penelitian dilakukan dengan total perlakuan 12 variasi dengan ukuran 4m x 4m x 0,3m untuk masing-masing perlakuan seperti ditampilkan dalam Gambar 3.3. 6 variasi perlakuan menggunakan bakteri *indigenous* dan 6 variasi perlakuan lainnya menggunakan bakteri *non-indigenous*.



Gambar 3. 3 Grid lokasi penelitian (dokumentasi lapangan, 2025)

Bioaugmentasi menggunakan variasi bakteri berupa variasi bakteri *indigenous* yaitu dengan memanfaatkan bakteri yang tersedia secara alami di tanah terkontaminasi minyak bumi tanpa penambahan bakteri dari luar dan variasi penambahan bakteri *non-indigenous* yaitu dengan penambahan bakteri dari luar pada tanah terkontaminasi minyak bumi. Biostimulasi menggunakan pupuk kimia berupa pupuk urea sebagai sumber nitrogen dan pupuk SP-36 sebagai sumber fosfor. Pemberian pupuk urea dan pupuk fosfor dilakukan sebanyak 2 kali, yaitu pada hari ke-3 penelitian sebanyak 50% dan di hari ke-14 penelitian sebanyak 50% dari total kebutuhan nutrisi. Tabel 3.1 menunjukkan matriks penelitian yang direncanakan dalam penelitian ini.

Tabel 3. 1 Matriks penelitian

Rasio C:N:P	Z0		B	
	3	5	3	5
X0	Z0X0(3)	Z0X0(5)	BX0(3)	BX0(5)
Y1	Z0Y1(3)	Z0Y1(5)	BY1(3)	BY1(5)
Y2	Z0Y2(3)	Z0Y2(5)	BY2(3)	BY2(5)

X0: tanpa *nutrient*

Y1: *nutrient* dengan rasio C: N: P 100:10:1

Z0: bakteri *indigenus*

Y2: *nutrient* dengan rasio C: N: P 100:5:1

B: bakteri *non-indigenus*

4. Analisis sampel

Pengambilan sampel dilakukan pada 5 titik menggunakan hand auger kemudian kelima sampel dikompositkan. Sampel uji tanah dikirim ke laboratorium untuk dilakukan uji TPH (%) dengan method US EPA 8015C:2007. Pengambilan sampel dilakukan dalam rentang waktu 7 hari untuk masing-masing variasi perlakuan. Perhitungan matematis persentase degradasi TPH menggunakan rumus dengan TPH awal dan TPH akhir mewakili konsentrasi awal dan akhir TPH untuk masing-masing variasi perlakuan dengan persamaan berikut:

$$\frac{TPH_{akhir} - TPH_{awal}}{TPH_{awal}} \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

Selanjutnya dilakukan perhitungan matematis untuk mengetahui laju degradasi TPH dengan cara membandingkan % degradasi TPH terhadap waktu bioremediasi, dengan persamaan sebagai berikut:

$$\frac{\% \text{ degradasi TPH}}{\text{total hari}} \dots\dots\dots (2)$$

5. Perhitungan populasi bakteri

Pengukuran lonjakan populasi bakteri dihitung dengan persamaan sebagai berikut:

$$\Delta \log_{10} = \log_{10}(TPC \text{ akhir}) - \log_{10}(TPC \text{ awal}) \dots\dots\dots (3)$$

6. Analisis Data Menggunakan *Software* Statistik

Pengaruh variabel rasio C:N:P dianalisis secara statistik untuk membandingkan perbedaan yang signifikan terhadap semua variasi perlakuan dengan menggunakan aplikasi Minitab 16. Minitab sebagai salah satu perangkat lunak statistika yang dipilih untuk pengujian hipotesis dengan menggunakan pendekatan nilai-P. Nilai-P adalah probabilitas bahwa statistika uji akan mengambil suatu nilai, sebagai tingkat signifikansi terkecil yang akan mengakibatkan penolakan hipotesis nol H_0 , dengan tingkat keyakinan 95% (nilai α atau tingkat signifikansi pada 0,05). Kriteria penolakan hipotesis untuk setiap uji H_0 ditolak jika nilai P-value $< \alpha$ (0,05). Rasio C:N:P sebagai faktor dan degradasi TPH sebagai response. *One way* ANOVA digunakan untuk menganalisis signifikansi tingkat faktor terhadap respon.

7. Aktifitas penelitian di lapangan

Aktifitas penelitian akan dilakukan mulai dari kegiatan persiapan yang terdiri dari aktifitas pembuatan *grid* variasi perlakuan, dan kegiatan pelaksanaan yaitu aktifitas biostimulasi, bioaugmentasi, aerasi, sampling dan aktifitas pendukung lainnya seperti pengukuran suhu, kelembaban, pH. Secara umum, aktifitas kegiatan lapangan sebagaimana diperlihatkan pada Gambar 3.4

- Pembuatan *grid* pemulihan dengan ukuran 4m x 4m x 0,3m untuk masing-masing variasi perlakuan



- Proses biostimulasi untuk variasi perlakuan dengan penambahan nutrisi berupa pupuk urea dan pupuk SP-36



- Proses bioaugmentasi dengan penambahan bakteri eksternal dengan cara penyemprotan bakteri ke tanah tercemar



- Proses aerasi menggunakan traktor



- Proses sampling untuk masing-masing variasi perlakuan, masing-masing grid diambil 5 sampel tanah untuk dikompositkan



- Proses komposit sampel sebelum dikirim ke laboratorium untuk analisa TPH



Gambar 3. 4 Aktifitas Pemulihan Lapangan (dokumentasi lapangan, 2025)

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pelaksanaan Bioremediasi

Bioaugmentasi menggunakan variasi bakteri berupa variasi bakteri *indigenous* yaitu dengan memanfaatkan bakteri yang tersedia secara alami di tanah terkontaminasi minyak bumi tanpa penambahan bakteri dari luar dan variasi penambahan bakteri *non-indigenous* yaitu dengan penambahan bakteri dari luar pada tanah terkontaminasi minyak bumi.

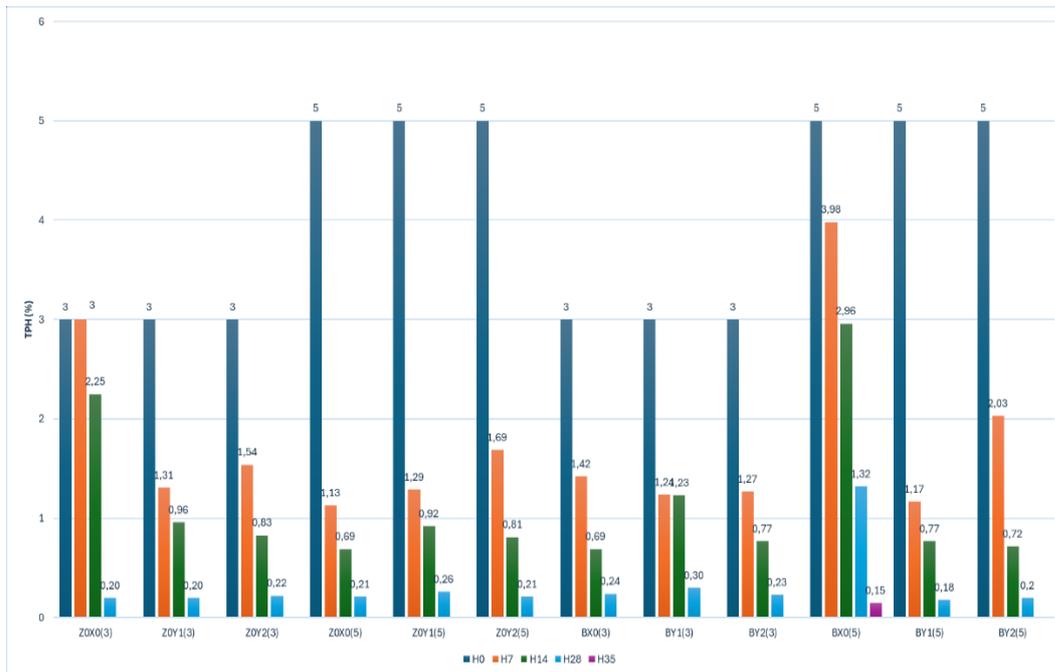
Biostimulasi menggunakan pupuk kimia berupa pupuk urea sebagai sumber nitrogen dan pupuk SP-36 sebagai sumber fosfor. Pemberian pupuk urea dan pupuk fosfor dilakukan sebanyak 2 kali, yaitu pada hari ke-3 penelitian sebanyak 50% dan di hari ke-14 penelitian sebanyak 50% dari total kebutuhan nutrien.

4.2 Hasil Pengukuran Data Lapangan

Hasil pengukuran lapangan dan analisa proses yang terjadi dapat dijelaskan sebagai berikut.

4.2.1 Total Petroleum Hydrocarbon (%)

Hasil pengamatan pengukuran degradasi TPH hingga hari ke-28 penelitian menunjukkan bahwa secara keseluruhan nilai TPH masing-masing variasi perlakuan menunjukkan penurunan. Tidak terdapat perbedaan signifikan laju degradasi antara variasi perlakuan bakteri *non-indigenous* dan bakteri *non-indigenous*. Rata-rata degradasi TPH akhir terhadap awal sebesar 92% dengan laju degradasi sebesar 3% per hari, dengan hasil degradasi TPH sebagaimana ditampilkan pada gambar 4.1. Pada fase awal bioremediasi (hari 0-7) pengujian, diperoleh rata-rata degradasi TPH untuk semua variasi perlakuan adalah 54%. Putra (2008) menyebutkan bahwa penggunaan bakteri *Bacillus sp* dapat menurunkan kadar minyak bumi hingga 55% setelah inkubasi selama 7 hari.



TPH	Variasi Perlakuan
3%	Bakteri indigenous + Tanpa Nutrient
	Bakteri indigenous + Nutrient 100:10:1
	Bakteri indigenous + Nutrient 100:5:1
5%	Bakteri indigenous + Tanpa Nutrient
	Bakteri indigenous + Nutrient 100:10:1
	Bakteri indigenous + Nutrient 100:5:1
3%	Bakteri non-indigenous + Tanpa Nutrient
	Bakteri non-indigenous + Nutrient 100:10:1
	Bakteri non-indigenous + Nutrient 100:5:1
5%	Bakteri non-indigenous + Tanpa Nutrient
	Bakteri non-indigenous + Nutrient 100:10:1
	Bakteri non-indigenous + Nutrient 100:5:1

Gambar 4. 1 Degradasi TPH variasi perlakuan terhadap waktu

Variasi perlakuan bakteri *indigenous* mengidentifikasi populasi bakteri lokal yang terdapat pada tanah aktif dan aktifitas pemulihan berlangsung secara *natural attenuation* dengan ketersediaan nutrisi yang cukup dan pertumbuhan bakteri berlangsung efektif tanpa intervensi bakteri eksternal. Bakteri *indigenous* yang tersedia secara alami sudah beradaptasi untuk melakukan metabolisme hidrokarbon. Penelitian Bento et al. (2005) menunjukkan bahwa tanah dengan komunitas mikroba asli yang adaptif dapat mendegradasi TPH tanpa perlakuan tambahan. Atlas & Hazen (2011) menyatakan bahwa “*natural attenuation*” sering kali cukup efektif dalam tahap awal, terutama di lingkungan yang telah lama terkontaminasi. Penelitian Firdaus (2020) mengisolasi bakteri dominan dari sampel

minyak bumi di Lapangan Minyak Meruap, Jambi, dan menemukan bahwa *Pseudomonas* sp. dan *Bacillus* sp. secara alami terdapat di tanah tersebut.

Variasi perlakuan dengan bakteri *non-indigenous* menunjukkan bahwa adaptasi bakteri tambahan belum optimal dan belum dapat beradaptasi dengan kondisi lingkungan yang baru dan diperlukan proses adaptasi yang berakibat menurunkan efektifitas bakteri dalam mendegradasi hidrokarbon. Menurut Coulon et al. (2005), bakteri hasil inokulasi menunjukkan penurunan efisiensi biodegradasi pada minggu pertama karena tekanan lingkungan yang baru dan belum stabilnya populasi mikroba asing dalam tanah. Penambahan bakteri eksternal memicu terjadinya kompetisi dengan mikroorganisme *indigenous* yang telah beradaptasi secara alami di lingkungan tercemar tersebut. Bakteri lokal bisa lebih cepat menggunakan hidrokarbon sebagai sumber karbon, sedangkan bakteri eksternal kalah bersaing dan belum aktif secara maksimal. Gentry et al. (2004) menjelaskan bahwa dalam kondisi tanpa penambahan bakteri, bakteri *indigenous* lebih efisien dalam memulai degradasi karena tidak harus beradaptasi ulang. Penambahan bakteri dapat mengganggu ekosistem bakteri *indigenous* dan memperlambat proses degradasi awal.

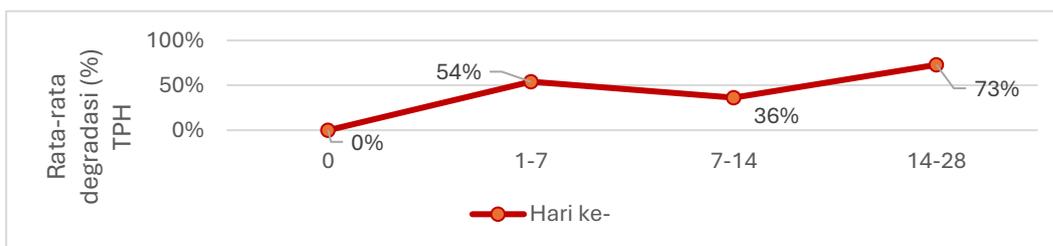
Konsentrasi tanah terkontaminasi minyak bumi dengan nilai TPH 3% memiliki jumlah karbon lebih sedikit, sehingga kebutuhan nutrisi (N dan P) untuk menjaga rasio C:N:P tetap seimbang masih mungkin dipenuhi oleh kandungan nutrisi alami dalam tanah. Konsentrasi TPH 5% memiliki karbon lebih tinggi, sementara nutrisi tetap terbatas karena tidak ada penambahan. Hal ini menyebabkan rasio C:N:P menjadi sangat tidak seimbang, menghambat pertumbuhan mikroba dan memperlambat degradasi hidrokarbon. Das & Chandran (2011) menyatakan bahwa kandungan karbon yang tinggi dalam minyak dan rendahnya ketersediaan nitrogen dan fosfor yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroba, mengakibatkan laju dan tingkat degradasi menjadi terbatas.

Konsentrasi tanah terkontaminasi minyak bumi dengan nilai TPH 5% memiliki senyawa hidrokarbon berat atau toksik (misalnya aromatik, asphaltene) lebih dominan dan menghambat aktivitas enzimatik bakteri atau bahkan membunuh

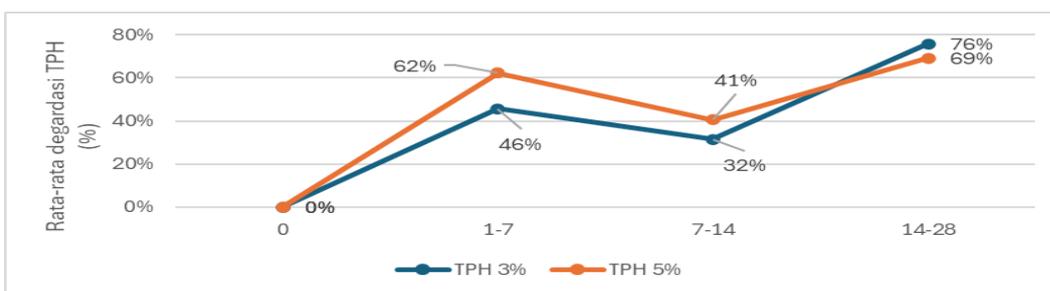
sebagian populasi mikroba. Tanpa dukungan nutrisi untuk regenerasi dan pemulihan sel mikroba, efektivitas biodegradasi menurun drastis. Atlas & Bartha (1992) menjelaskan bahwa pada konsentrasi tinggi, hidrokarbon minyak bumi dapat menjadi racun bagi populasi mikroba, menghambat fungsi metabolisme mereka. Selain itu, tidak adanya nutrisi penting seperti nitrogen dan fosfor dalam lingkungan yang terkontaminasi minyak sering kali membatasi laju dan tingkat biodegradasi hidrokarbon.

4.2.2 Variasi degradasi TPH

Hasil pengukuran menunjukkan degradasi TPH yang bervariasi selama 28 hari penelitian dengan rata-rata laju degradasi hari 0-7 sebesar 54%, hari 7-14 sebesar 36%, dan hari 14-28 sebesar 73%, sebagaimana ditampilkan pada Gambar 4.2 dan degradasi TPH 3% dan 5% sebagaimana ditampilkan pada Gambar 4.3



Gambar 4. 2 Rata-rata degradasi TPH terhadap waktu



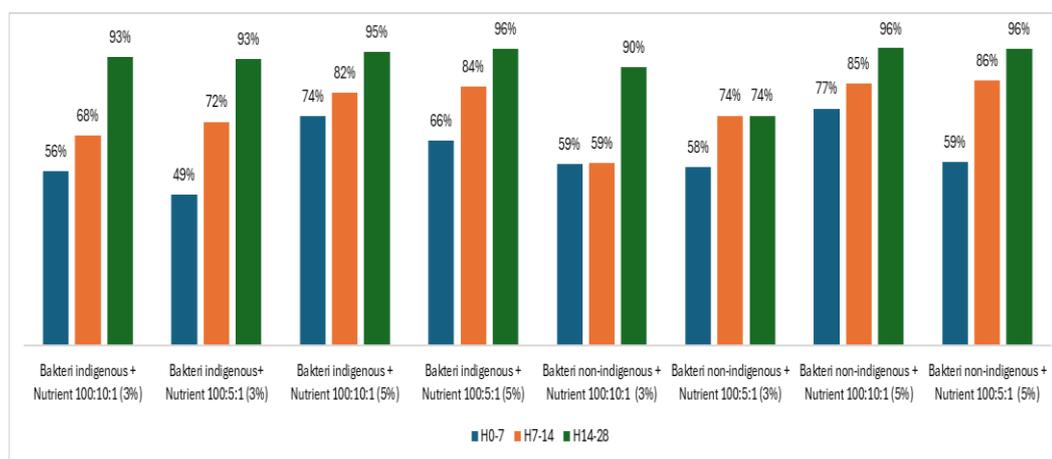
Gambar 4. 3 Degradasi TPH 3% dan 5% terhadap waktu

hidrokarbon ringan yang lebih mudah untuk larut dalam air sehingga lebih mudah dimetabolisme oleh bakteri. Pada fase awal ini bakteri menghasilkan enzim seperti oksigenase dan peroksidase yang mampu memecah rantai hidrokarbon kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana dan kurang toksik. Pertumbuhan bakteri berada pada fase *lag* (adaptasi) dan mulai memasuki fase *log* (pertumbuhan eksponensial) dan dengan penambahan urea (sumber nitrogen) dan SP-36 (sumber

fosfor) membantu pertumbuhan dan aktifitas bakteri. Menurut Atlas & Bartha (1992), degradasi hidrokarbon paling cepat terjadi pada fase awal dikarenakan *bioavailability* yang tinggi dan masih tersedianya fraksi hidrokarbon ringan yang mudah larut dan mudah diserap.

Pada fase tengah bioremediasi rentang hari 7-14, laju degradasi TPH mengalami perlambatan dikarenakan fraksi hidrokarbon ringan yang mudah terurai sudah mulai berkurang, hidrokarbon yang tersisa kurang larut dalam air dan teradsorpsi pada partikel tanah. Bakteri mulai mendegradasi senyawa yang lebih kompleks dan resisten. Ketersediaan nutrisi (urea dan fosfor) mulai menurun (depleksi nutrisi) dan mulai terjadi kompetisi mikroba. Haritash & Kaushik (2009) menyatakan bahwa setelah fraksi hidrokarbon ringan hilang, maka *bioavailability* menurun dan menyebabkan laju degradasi melambat. Pada fase akhir bioremediasi rentang hari 14-28, laju degradasi TPH kembali meningkat.

Konsorsium bakteri telah beradaptasi terhadap fraksi hidrokarbon kompleks dengan meningkatkan produksi enzim spesifik seperti *monoxygenase*, *dioxygenase*. Penambahan nutrisi berupa pupuk urea (sumber nitrogen) dan pupuk SP-36 (sumber fosfor) di hari ke-14 membantu kembali metabolisme dan aktifitas bakteri. Menurut Margesin Shinner (2001), bakteri seperti *Bacillus*, *Pseudomonas* menunjukkan efisiensi pada fase akhir bioremediasi dikarenakan ketahanan dan ketajaman enzimatisnya. Hasil pengukuran degradasi TPH sebagaimana ditampilkan pada Gambar 4.4

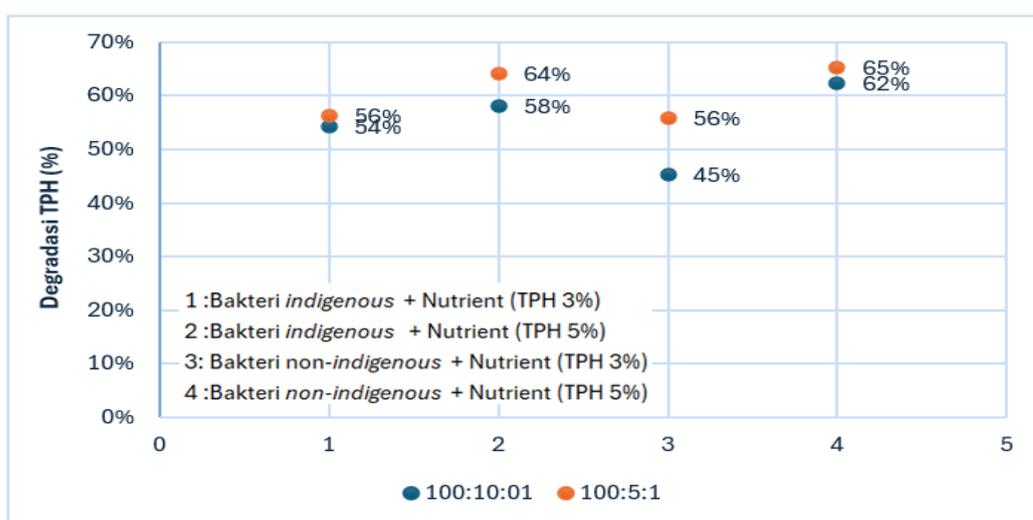


Gambar 4. 4 Degradasi kumulatif TPH terhadap waktu

Secara kumulatif perbandingan degradasi TPH masing-masing rentang hari penelitian terhadap TPH awal menunjukkan persentase biodegradasi meningkat rata-rata 20% untuk masing-masing rentang hari penelitian terhadap penelitian awal. Hal ini menunjukkan bakteri yang ada mampu memanfaatkan hidrokarbon sebagai sumber energi dan karbon yang didukung oleh parameter lingkungan yang ideal. Penelitian Bento et al. (2005) menunjukkan laju degradasi diesel mencapai 80% dalam waktu 30 hari dengan penambahan nutrisi (biostimulasi). Atlas & Bartha menyatakan biodegradasi TPH bisa mencapai >75% dalam 4 minggu jika kondisi lingkungan dan mikroba mendukung.

4.2.3 Perbandingan degradasi TPH rasio C:N:P 100:10:1 dan 100:5:1

Penambahan bakteri tidak selalu meningkatkan degradasi TPH secara konsisten. Pada konsentrasi TPH 3% dengan rasio 100:10:1, penambahan bakteri memperlambat degradasi TPH sebesar 16% (54% bakteri *indigenous* dibandingkan 45% bakteri *non-indigenous*). Perbandingan degradasi TPH untuk masing-masing rasio C:N:P sebagaimana ditampilkan pada Gambar 4.5. Pada konsentrasi TPH 5% dengan rasio 100:1:1, penambahan bakteri meningkatkan 6% degradasi TPH (58% bakteri *indigenous* dibandingkan 62% bakteri *non-indigenous*). Pada konsentrasi TPH 5% dengan rasio 100:10:1 dan 100:5:1, penambahan bakteri relatif tidak meningkatkan laju degradasi yang signifikan.



Gambar 4. 5 Perbandingan rasio C:NP 100:10:1 dan 100:5:1

Hasil ini menunjukkan populasi bakteri *indigenus* telah lama beradaptasi dengan tanah tercemar, cenderung memiliki mekanisme untuk menyeimbangkan kebutuhan N dan P, sehingga rasio lebih tinggi tidak memicu peningkatan degradasi signifikan. Ini dapat menyebabkan kompetisi mikroba yang terjadi antara mikroorganisme tambahan dengan mikroorganisme asli tanah (Tyagi et al., 2011). Untuk semua variasi perlakuan dengan bakteri *indigenus* maupun dengan bakteri *non-indigenus* untuk masing-masing TPH 3% dan TPH 5% menunjukkan rasio 100:5:1 menghasilkan degradasi TPH lebih tinggi dibandingkan 100:10:1. Rasio 100:10:1 memberikan jumlah nitrogen lebih tinggi, yang tidak selalu dibutuhkan dalam jumlah besar, terutama pada konsentrasi TPH 3% yang relatif rendah. Nitrogen yang berlebih dapat menyebabkan inefisiensi pemanfaatan nutrisi dan pertumbuhan mikroba tidak optimal karena kondisi toksik atau stress osmosis. Tyagi et al. (2011) menjelaskan bahwa biostimulasi yang berlebihan (*nutrient overload*) dapat menurunkan efisiensi biodegradasi karena ketidakseimbangan nutrisi dan akumulasi metabolit toksik. Rasio nutrisi optimal lebih menentukan daripada sekadar penambahan bakteri. Atlas & Bartha (1992) menekankan bahwa keseimbangan nutrisi sangat penting agar bioaugmentasi (penambahan bakteri) menjadi efektif.

4.2.4 Total Plate Count (TPC)

Pengukuran nilai TPC dilakukan pada hari ke-0 dan hari ke-28. Hasil pengukuran menunjukkan kenaikan TPC sekitar 14% untuk masing-masing TPH 3% dan TPH 5%, sebagaimana ditampilkan pada Tabel 4.1

Tabel 4. 1 Lonjakan populasi bakteri

Parameter	TPH 3%	TPH 5%
TPC Awal (cfu/g)	$1,13 \times 10^6$	$1,24 \times 10^6$
TPC Akhir (cfu/g)	$1,29 \times 10^6$	$1,41 \times 10^6$
Lonjakan populasi	$1,60 \times 10^5$	$1,70 \times 10^5$
$\Delta \log_{10}$	0,06	0,03
Faktor kenaikan (\times lipat)	1,14 kali	1,07 kali

Perhitungan *Total Plate Count* menunjukkan bahwa setelah inokulasi konsorsium bakteri *non-indigenous*, kepadatan total bakteri hanya bertambah 14% dibanding populasi bakteri *indigenous* di tanah tercemar. 14% dapat diartikan bahwa 6 dari setiap 7 koloni yang terhitung pada hari ke-28 masih berasal dari komunitas bakteri *indigenous*, sedangkan 1 koloni adalah *strain* pendatang dari bakteri *non-indigenous*. Inokulum bakteri *non-indigenous* berhasil menetap, tetapi tidak menggantikan komunitas bakteri *indigenous*.

Perubahan lonjakan populasi bakteri dalam mikrobiologi lingkungan biasanya dinyatakan sebagai $\Delta \log_{10}$, yaitu selisih pada skala log 10 untuk menilai pertumbuhan bakteri secara signifikan. Kauppi et al. (2011) menunjukkan kenaikan populasi bakteri $\geq 0,5 \log_{10}$ atau 3,16 kali sebagai syarat minimal untuk menyatakan bioaugmentasi menetap, aktif dan *significant increase* selama bioaugmentasi. Hasil penelitian menunjukkan kenaikan populasi bakteri sebesar $0,06 \log_{10}$ atau 1,14 kali dari populasi awal. Inokulum bakteri *non-indigenous* bertahan tetapi belum mendominasi jalur degradasi yang disebabkan akibat kompetisi bakteri dan dosis tunggal yang terlalu rendah. Untuk mendapatkan lonjakan populasi pencampuran bakteri $> 0,5 \log_{10}$ maka dosis bakteri *non-indigenous* yang diperlukan pada penelitian ini sebesar 15 Liter untuk setiap 1 m^3 tanah terkontaminasi minyak bumi dengan campuran 10 Liter air (25 Liter larutan aplikasi per m^3)

Pada fase awal bioremediasi (hari ke-0) nilai TPC awal 1,130,000 cfu/g untuk tanah terkontaminasi minyak dengan TPH 3% dan TPC awal 1,290,000 cfu/g dan untuk tanah terkontaminasi minyak bumi dengan TPH 5%. Populasi menunjukkan jumlah bakteri *indigenous* sudah ideal pada tanah yang tercemar. Atlas & Bartha (1998) menyebutkan bahwa populasi mikroba sekitar 10^6 – 10^7 cfu/g tanah cukup untuk memulai proses degradasi hidrokarbon secara alami. Jumlah TPC fase awal bioremediasi mampu untuk melakukan degradasi awal hingga dihari ke-7 mencapai laju degradasi TPH sebesar 54-56%.

Pada hari ke-28 penelitian, menunjukkan kenaikan nilai TPC untuk tanah terkontaminasi minyak bumi TPH 3% dan 5%. Penambahan nutrien di hari ke-14

penelitian berupa pupuk urea sebagai sumber N dan pupuk SP-36 sebagai sumber fosfor berdampak terhadap aktifitas dan pertumbuhan bakteri. Kenaikan ini menunjukkan bahwa populasi mikroorganisme, khususnya bakteri pendegradasi hidrokarbon, mengalami pertumbuhan yang positif. Hal ini memacu pertumbuhan sel secara aktif dan meningkatkan jumlah koloni bakteri yang terukur melalui TPC.

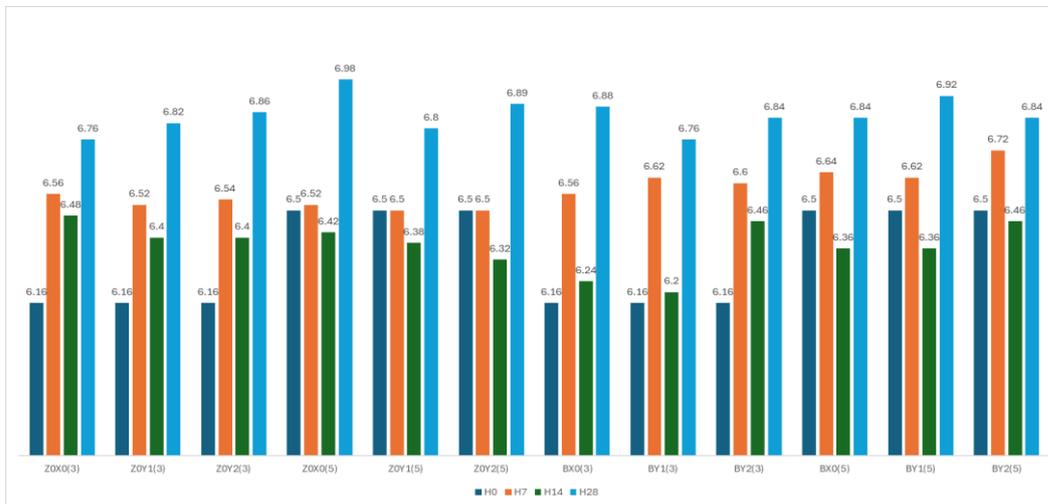
Setelah dua minggu awal proses bioremediasi berlangsung, lingkungan tanah menjadi lebih mendukung untuk pertumbuhan mikroba. Hal ini termasuk penurunan toksisitas akibat dekomposisi sebagian besar hidrokarbon dan mulai terbentuknya komunitas mikroba yang adaptif terhadap kontaminan. Lingkungan yang lebih stabil dan nutrient yang memadai menciptakan kondisi optimal bagi pertumbuhan mikroba (Vidali, 2001). Penambahan nutrien juga mendorong dominasi mikroorganisme yang memiliki kemampuan spesifik untuk mendegradasi hidrokarbon. Ketika nutrient tersedia, mikroba pendegradasi akan berkembang lebih cepat daripada mikroorganisme lainnya, meningkatkan efektivitas proses bioremediasi dan jumlah populasi yang aktif (Atlas & Bartha, 1998).

4.2.5 Pengukuran pH

Pengukuran pH dilakukan dengan *soil tester* yang bekerja secara otomatis mengukur nilai pH masing-masing variasi perlakuan. Menurut Eweis et al. (1998), pertumbuhan mikroorganisme akan meningkat apabila pH berada pada kisaran 6-9. Hingga penelitian hari ke 28, nilai pH menunjukkan semua variasi perlakuan memiliki angka yang cukup stabil, yaitu berada pada angka 6.1 – 6.8. Pengaruh degradasi hidrokarbon terhadap pH tanah berkaitan erat dengan jenis senyawa yang dihasilkan selama biodegradasi. Pada tahap awal, biodegradasi seringkali menghasilkan asam-asam organik ringan, yang dapat sedikit menurunkan atau menstabilkan pH (Das & Chandran, 2011). Pada fase awal rentang hari 0-7, pH meningkat 4% dari 6,33 menjadi 6,58 dan terjadi penurunan TPH yang signifikan dimana mikroorganisme aktif mengonsumsi hidrokarbon, khususnya senyawa hidrokarbon ringan yang lebih mudah terurai. Bakteri menghasilkan metabolit yang cenderung bersifat netral atau basa ringan. Degradasi TPH di awal biasanya

mengurangi senyawa asam organik yang dihasilkan oleh kontaminasi minyak bumi sebelumnya, sehingga pH tanah meningkat. Penambahan nutrisi (biostimulasi), terutama sumber nitrogen seperti urea, seringkali juga meningkatkan pH karena urea yang bersifat basa ringan.

Pada fase tengah rentang hari 7-14, pH menurun dari 6,58 menjadi 6,37. Laju degradasi TPH melambat. Mikroorganisme mulai menguraikan hidrokarbon yang lebih kompleks atau berat, menghasilkan produk antara (*intermediate metabolites*), seperti asam organik ringan (asam asetat, asam suksinat, asam fumarat). Terbentuknya produk-produk antara metabolisme mikroorganisme seperti asam organik yang bersifat agak asam. Ketersediaan nutrisi (urea) mulai menurun dan menurunkan sifat basa ringan dari urea. Pada fase akhir rentang hari 14-28, pH meningkat 7% dari 6,37 menjadi 6,58. Berkurangnya asam-asam organik hasil intermediat metabolisme, serta peningkatan aktivitas bakteri dalam menetralkan metabolit tersebut. Penambahan nutrisi (urea), menaikkan kembali sifat basa tanah. Hasil pengukuran pH sebagaimana ditampilkan pada Gambar 4.6

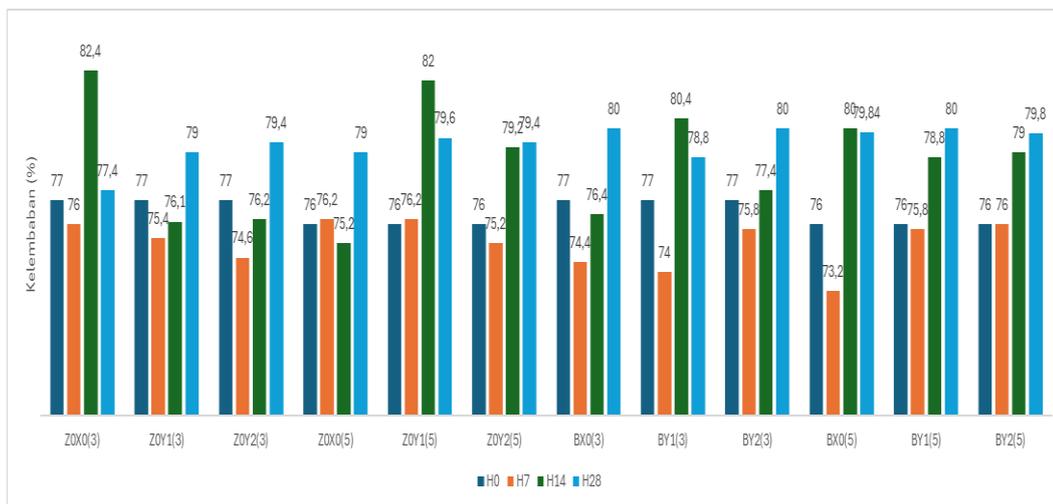


Gambar 4. 6 Hasil pengukuran pH terhadap waktu

4.2.6 Pengukuran kelembaban (%)

Pengukuran kelembaban dilakukan dengan *soil tester* yang bekerja secara otomatis mengukur nilai kelembaban masing-masing variasi perlakuan. Kelembaban yang optimum untuk bioremediasi tanah adalah sekitar 80% kapasitas

lapang atau 15% air dari berat kelembaban yang tidak mencukupi misalnya kurang dari 40%, dapat mengurangi laju bioremediasi (Cookson, 1995). Hasil pengukuran hingga hari ke 28 penelitian menunjukkan kelembaban 72-80%, sebagaimana ditampilkan pada Gambar 4.7



Gambar 4. 7 Hasil pengukuran kelembaban terhadap waktu

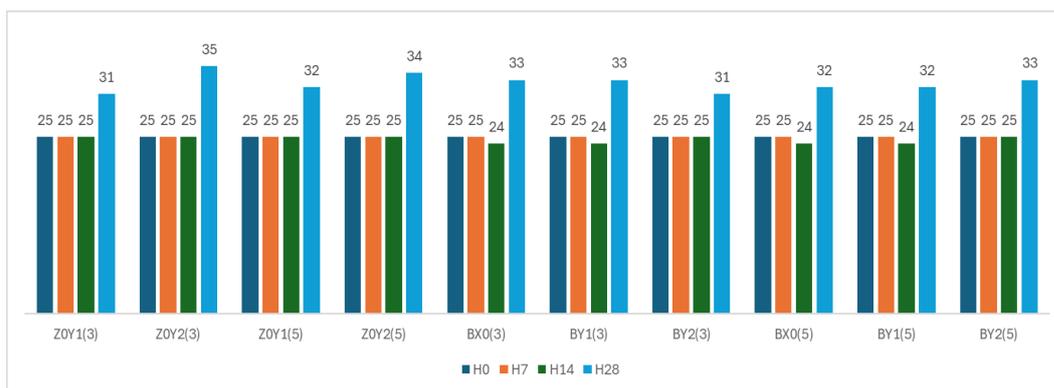
Pada fase awal bioremediasi hari 0-7, terjadi penurunan kelembaban pada variasi perlakuan baik dengan bakteri *indigenus* dan bakteri *non-indigenus* untuk masing-masing rasio CNP 100:10:1 dan 100:5:1. Pada fase ini, terjadi fase adaptasi (*lag phase*) dan mulai memasuki fase pertumbuhan logaritmik (*log phase*), sehingga banyak menggunakan air untuk metabolisme dan respirasi mikroba. Vidali (2001) dan Das & Chandran (2011) menyatakan bahwa pada fase awal bioremediasi, mikroorganisme aerob sangat aktif sehingga air digunakan intensif untuk aktivitas metabolik.

Pada fase pertengahan hari ke 7-14 bioremediasi, kelembaban naik. Aktifitas mikroba mulai menurun yang disebabkan oleh fraksi hidrokarbon ringan sudah mulai berkurang, mikroba memasuki fase stasioner sehingga konsumsi air berkurang. Proses bioremediasi menghasilkan air sebagai produk akhir metabolisme hidrokarbon (CO₂ dan H₂O). Atlas & Bartha (1992) menjelaskan bahwa metabolisme mikroorganisme dalam degradasi hidrokarbon menghasilkan air, yang pada fase menengah mulai terakumulasi.

Pada fase akhir hari ke 14-28 bioremediasi, nilai kelembaban tetap naik yang diakibatkan berkurangnya aktifitas mikroorganismenya sehingga konsumsi air menjadi sedikit. Produksi air tetap berlangsung yang berasal dari proses sisa-sisa degradasi hidrokarbon kompleks. Cookson (1995) menyebutkan bahwa pada fase akhir, kelembaban tanah dapat meningkat secara pasif karena minimnya aktivitas mikroba yang mengonsumsi air serta adanya pelepasan air dari degradasi senyawa organik kompleks.

4.2.7 Pengukuran suhu (°C)

Pengukuran suhu dilakukan dengan *soil tester* yang bekerja secara otomatis mengukur nilai suhu masing-masing variasi perlakuan. Pada tabel 4.6, suhu yang terukur selama 28 hari menunjukkan nilai 25°C – 35°C, yang merupakan suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri. Rentang suhu yang terukur pada semua variasi perlakuan dengan penambahan bakteri uji masih relatif stabil dikisaran suhu mesofilik yang dibutuhkan bakteri untuk tumbuh, yaitu antara 20°C – 40°C. Hal ini diperkuat dengan pernyataan Vidali (2001), bahwa pada proses biodegradasi minyak yang dilakukan secara biologis berada di dalam kondisi mesofilik. Suhu optimum yang diperlukan bagi pertumbuhan bakteri dalam biodegradasi lumpur minyak bumi adalah 20-30°C (Retno dan Mulyana, 2013). Hasil pengukuran suhu sebagaimana ditampilkan dalam Gambar 4.8



Gambar 4. 8 Hasil pengukuran suhu terhadap waktu

Pada fase awal bioremediasi hari 0-14, mikroorganismenya—baik *indigenous* maupun tambahan masih berada dalam fase adaptasi (*lag phase*) dan mulai

memasuki fase pertumbuhan logaritmik (*log phase*). Pada fase ini, aktivitas metabolik belum terlalu tinggi karena mikroba masih menyesuaikan diri dengan lingkungan tercemar hidrokarbon, Biodegradasi awal difokuskan pada fraksi TPH ringan yang relatif lebih mudah terurai tetapi menghasilkan sedikit panas. Vidali (2001) menyatakan mikroorganisme memerlukan waktu untuk menginduksi enzim spesifik yang mampu mendegradasi hidrokarbon kompleks, sehingga panas metabolik pada fase awal belum signifikan. Vidali (2001) menyatakan fase awal bioremediasi cenderung menunjukkan suhu tanah stabil karena mikroorganisme belum mencapai aktivitas maksimum. Pada fase ini, mikroorganisme umumnya mendegradasi fraksi TPH ringan (alifatik sederhana). Proses degradasi fraksi ringan menghasilkan energi lebih rendah (tidak terlalu eksotermik), sehingga suhu tanah tidak meningkat secara signifikan.

Pada fase akhir bioremediasi hari ke 14-28, populasi mikroba telah berkembang, beradaptasi dengan baik dan mulai mendegradasi fraksi hidrokarbon berat (aromatik, resin, asphaltene). Reaksi biodegradasi yang terjadi bersifat eksotermik dan menghasilkan panas biologis (*biogenic heat*), terutama jika populasi mikroba tinggi. Reaksi biokimia ini lebih kompleks dan eksotermik, menghasilkan lebih banyak panas metabolik. Atlas & Bartha (1992) menyebutkan degradasi fraksi berat oleh mikroorganisme menghasilkan energi yang lebih tinggi dan cenderung menaikkan suhu tanah.

Atlas & Bartha (1992) juga menjelaskan bahwa tumpukan tanah yang aktif secara biologis dapat mengalami kenaikan suhu 5–10°C akibat respirasi mikroba. Das & Chandran (2011) menyebutkan bahwa suhu antara 30–35°C merupakan suhu optimal bagi banyak mikroorganisme degradasi hidrokarbon.

4.2.8 Analisis ANOVA

Analisis data dilakukan dengan uji statistik yaitu uji *Anova General Linier Model* mengetahui pengaruh rasio C:N:P terhadap degradasi TPH. Rasio C:N:P 100:5:1 dan 100:10:1 sebagai faktor, dan % degradasi TPH sebagai response dengan hipotesis sebagaimana ditampilkan pada Tabel 4.2

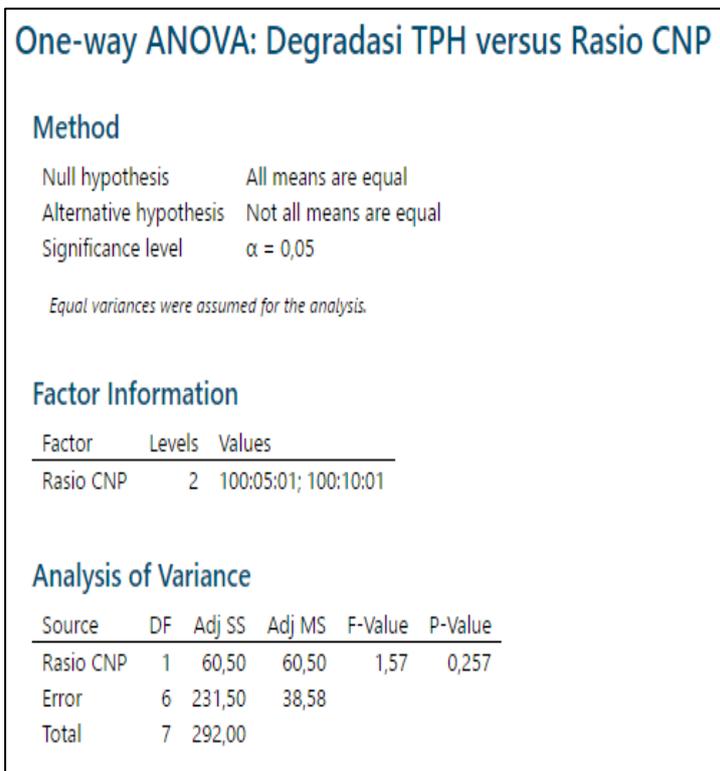
Tabel 4. 2 Faktor dan response ANOVA

Factors	Responses (% degradasi TPH)			
100:5:1	56	64	56	65
100:10:1	54	58	45	62

$$H_0 = \mu_{100:5:1} = \mu_{100:10:1}$$

$$H_1 = \textit{at least one means different}$$

Hasil analisis statistik menunjukkan nilai P-value > 0,5 sehingga H_0 ditolak sebagaimana ditampilkan pada Gambar 4.9. Faktor rasio C:N:P tidak berpengaruh signifikan terhadap degradasi TPH.



Gambar 4. 9 Simulasi ANOVA

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian adalah sebagai berikut:

1. Pengolahan limbah B3 dengan cara bioremediasi menggunakan bakteri *indigenus* dan bakteri *non-indigenus* telah mencapai baku mutu PH \leq TK-B 0,5% di hari ke-28 penelitian dengan rata-rata degradasi TPH awal ke TPH akhir sebesar 92% dengan rata-rata laju degradasi 3% per hari. Hasil ini menunjukkan waktu bioremediasi lebih cepat 2,5 bulan dari pengolahan tanah terkontaminasi minyak sebelumnya
2. Bakteri *non-indigenus* yang ditambahkan pada tanah tercemar tidak meningkatkan degradasi TPH secara signifikan. Terjadi kompetisi antara bakteri *indigenus* yang tersedia di tanah dengan bakteri *non-indigenus* yang ditambahkan ke tanah tercemar.
3. Rasio C:N:P pada proses biostimulasi tidak berpengaruh secara signifikan terhadap degradasi TPH. Degradasi TPH terbesar terjadi pada rasio C:N:P 100:5:1 dengan rata-rata penurunan sebesar 60%

3.2 Saran

Saran yang dapat diberikan berdasarkan hasil penelitian saat ini untuk penelitian selanjutnya yaitu:

1. Melanjutkan kajian secara laboratorium dengan replikasi pengambilan data minimal tiga kali, dengan variasi uji kultur bakteri *indigenus* serta melakukan evaluasi pengaruh konsentrasi inokulum bakteri *indigenus* dan campuran bakteri *non-indigenus* untuk mendapatkan rasio optimal dalam biodegradasi TPH
2. Melakukan kajian biodegradasi dengan menggunakan sampel TPH yang lebih tinggi (TPH 5% - 10%) baik secara *insitu* dan *ex-situ* dan skala laboratorium

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, M. (2012), "*Tinjauan Proses Bioremediasi melalui Pengujian Tanah Tercemar Minyak*", UPN Press. Surabaya
- Alvarez PJJ, Illman WA. (2006). "Bioremediation and Natural Attenuation: Process Fundamentals and Mathematical Models". John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, New Jersey
- Atlas, R. M & Bartha, R. (1985), "*Microbial Ecology*", The Benjamin Cummings Publishing, London.
- Atlas, R.M. & Bartha, R. (1992), "Hydrocarbon Biodegradation and Oil Spill Bioremediation", *Advances in Microbial Ecology*, Vol.12 pages 287 – 338
- Atlas R.M. & Bartha R., (1998) "*Microbial Ecology: Fundamentals and Applications*," 4th ed., Chapter 28
- Atlas, R.M. & Hazen, T.C. (2011). "Oil biodegradation and bioremediation: a tale of the two worst spills in U.S. history", *Environmental Science & Technology*, USA
- Baker, C and Herson, D. (1994), "*Bioremediation*", McGraw-Hill, Inc, USA
- Bento, F.M., Camargo, F.A.O., Okeke, B.C. & Frankenberger, W.T. (2005). "*Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation*". Bioresource Technology, Vol. 96
- Cookson, J.T. (1995), "*Bioremediation Engineering: Design and Application*", Mc. Graw Hill, Inc.
- Eweis, J.B., Ergas, S.J., Chang, D.P., Schoroeder, E.D. (1998), "*Bioremediation Principles*", Mc-Graw Hill, New York
- Fahrudin. (2014), "*Bioteknologi Lingkungan*", Edisi Revisi, Penerbit Alfabeta., Bandung.
- Gentry, T., Rensing, C., Pepper I. (2004), "New Approaches for Bioaugmentation

as a Remediation Technology”, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*

Haritash A.K, & Kaushik, C.P.. (2009) “Biodegradation Aspects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A Review”, *Journal of Hazardous Materials*, Vol. 169

Hreniuc, M., Coman, M., Cioruta, B. (2015), “Considerations Regarding The Soil Pollution with Oil Products in Sacel – Maramures”, *International Conference of Scientific Paper*

Kauppi, S., Sinkkonen, A., & Romantschuk, M. (2011), “Enhancing bioremediation of diesel-fuel-contaminated soil in a boreal climate: comparison of biostimulation and bioaugmentation”, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Vol.65, pages 359-368

Li, C., Cui, C., Zhang, J., Shen, J., He, B., Long, Y., Ye, J. (2023), “Biodegradation of petroleum hydrocarbons-based pollutants in contaminated soil by exogenous effective microorganisms and indigenous microbiome”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Vol. 253

Li, L., Liu, Y., Zhang, Y., Wang, X., Liu, H., Liu, Q., Chen, S., Zhou, G. (2024), “Dynamic responses in *Pseudomonas stutzeri* M3 bioaugmentation of crude-oil-contaminated soil: Hydrocarbons, microbial community structures, and functional genes”, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, Vol. 12

Mark, J.K., David, K.T., Xiang, T., Aubrey, L.M. (2018), “Diversity and Niche of Archaea in Bioremediation”, *Article ID 3194108*, Vol. 2018

Moch. Fierdaus (2015), “Pemulihan Tanah Tercemar Minyak Bumi Dengan Teknik Bioremediasi Menggunakan *Bacillus* Sp. dan *Pseudomonas* Sp.”, *Lembaran Publikasi Minyak dan Gas Bumi*, Vol.49, No.2

Mokrani, S., Houali, K., Yadav, K.K., Arabi, A.I.A., Eltayeb, L.B., Alreshidi, M.A., Benguerba, Y., Pinto, M.M.S., Nabti, E. (2024), “Bioremediation techniques for soil organic pollution: Mechanisms, microorganisms, and technologies - A comprehensive review, *Ecological Engineering*, Vol. 207

Muthukumar, B., Surya, S., Sivakumar, K., Alsalhi, M.S., Rao, T.N., Devanesan, S., Arunkumar, P., Rajasekar, A. (2023), “Influence of bioaugmentation in crude oil contaminated soil by *Pseudomonas* species on the removal of total petroleum hydrocarbon”, *Chemosphere*, Vol. 310

- Nugroho, A. (2006), “*Bioremediasi Hidrokarbon Minyak Bumi*”, Graha Ilmu., Yogyakarta.
- Nurmalasari, Rima (2024), “*Bioremediasi Tanah Terkontaminasi Solar Menggunakan Variasi Kultur Campuran Bakteri dan Rasio Nutrien*”, Tesis, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya
- NRF (2019), “Remediation Action Plan Development”, *Guideline on performing remediation options assessment*, National Remediation Framework, Australia
- Ossai, I.C, Ahmed, A., Hassan, A., Hamid, F.S (2020), “Remediation of soil and water contaminated with petroleum hydrocarbon: A review”, *Environmental Technology & Innovation*, Vol 17
- Ouriache, H., Moumed, I., Arrar, J. Namane, A., Lounici, H. (2020) “Influence of C/N/P ratio evolution on biodegradation of petroleum hydrocarbons-contaminated soil”, *Algerian Journal of Environmental Science and Technology*, Vol.6, No. 4
- Patowary, S., Devi, A., Mukherjee, A.K. (2023), “Advanced bioremediation by an amalgamation of nanotechnology and modern artificial intelligence for efficient restoration of crude petroleum oil-contaminated sites: a prospective study”, *Environmental Science and Pollution Research*
- Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan (2018), *Tentang Pedoman Pemulihan Lahan Terkontaminasi Limbah B3*, Nomor P.101/MENLHK/SETJEN/KUM.1/11
- Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan (2021), *Tentang Tata Cara dan Persyaratan Pengelolaan Limbah Bahan Berbahaya dan Beracun*, Nomor 6
- Peraturan Pemerintah (2021), *Tentang Penyelenggaraan Perlindungan dan Pengelolaan Lingkungan Hidup*, Nomor 22, Lampiran IX
- Putra (2028), “Bioremediasi Tanah Terkontaminasi Minyak Bumi oleh *Bacillus Sp* dan *Klebsiella Sp*”, *Laporan Praktikum Program Kreativitas Mahasiswa*, Institut Pertanian Bogor
- Qomaruddin, H., Kardena, E. (2024), “Enhancing field-scale bioremediation of weathered petroleum oil-contaminated soil with bio compost as a bulking agent”, *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, Vol 9

- Retno, T.D.L., dan Nana M. (2013), "Bioremediasi Lahan Tercemar Limbah Lumpur Minyak Menggunakan Campuran Bulking Agent yang Diperkaya Konsorsia Mikroba Berbasis Kompos Iradiasi", *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi*, Vol. 9, hal. 139-150.
- Sammarco, P.W, Kolian, S.R, Warby, R.A.F, Bouldin, J.L, Subra, W.A, Porter, S.A. (2016), "Concentrations in Human Blood of Petroleum Hydrocarbons Associated with The BP/Deepwater Horizon Oil Spill, Gulf of Mexico", *Archives of Toxicology*, Vol. 90, pages 829 – 831
- Sravya, K., Sangeetha, S. (2022), "Feasibility study on bioremediation techniques to contaminated soils", *Materials Today: Proceedings*, Vol.51, pages 2556 – 2560
- Stanojevic, A.B., Vrvic, M., Szakova, J., Miletic, S. (2024), "Evaluation of the ex-situ bioremediation of the petroleum hydrocarbons contaminated soil", *Bioremediation Journal*, Vo. 28, pages 553-563
- Suja, F., Rahim, F., Taha, M.R, Hambali, N., Razali, R.R., Khalid, A., Hamzah, A. (2014), "Effects of local microbial bioaugmentation and biostimulation on the bioremediation of total petroleum hydrocarbons (TPH) in crude oil contaminated soil based on laboratory and field observations", *International Biodeterioration & Biodegradation*, Vol. 90, pages 115-122
- Undang – Undang No 32 Tahun (2029), *Tentang Perlindungan dan Pengelolaan Lingkungan Hidup*
- US EPA. (1999), "Method 1664, Revision A : N-Hexane Extractable Material (HEM; Oil and Grease) and Silica Gel Treated N-Hexane Extractable Material (SGT-HEM; Non-polar Material) by Extraction and Gravimetry", *United States Environment Protection Agency, Washington DC.*
- US EPA (2023), "Total Petroleum Hydrocarbon", *Oil Spill Emergency Response – Monitoring The Use of Dispersants*, United States Environment Protection Agency, Washington DC
- Vidali, M. (2001), "Bioremediation : An Overview", *Journal of Applied Chemistry*. Vol.73, No.7, pages1163-1172.

BIOGRAFI PENULIS

BARITA AMJANI LIMBONG, lahir di Kota Dumai, Provinsi Riau. Penulis



merupakan anak pertama dari 5 bersaudara. Menyelesaikan sekolah dasar hingga sekolah menengah atas di Kota Dumai, kemudian melanjutkan pendidikan tinggi strata satu (S1) di Universitas Indonesia Jurusan Teknik Mesin. Penulis memiliki pengalaman bekerja di berbagai bidang rekayasa teknik, dan lebih kurang 15 tahun fokus bekerja di bidang pertambangan minyak dan gas bumi. Dalam 5 tahun terakhir mendapatkan penugasan baru dalam

proyek pemulihan tanah terkontaminasi minyak bumi di salah satu perusahaan minyak nasional dengan proyek bioremediasi *onshore* terbesar di Indonesia. Penugasan di bidang pemulihan lingkungan mendorong penulis untuk meneliti lebih dalam mengenai pemulihan tanah yang terkontaminasi minyak bumi, sebagai bentuk kontribusi ilmiah terhadap isu lingkungan dan pengembangan serta dukungan terhadap pelaksanaan proyek pemulihan yang sedang dilakukan, sehingga pada tahun 2023 Penulis melanjutkan studi program magister Jurusan Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil, Lingkungan dan Kebumihan Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Penulis dapat dihubungi melalui alamat surel barita.limbong@gmail.com

Lampiran 1 Perhitungan pupuk yang diperlukan

- Menghitung kebutuhan Nitrogen (N)

Persentase *carbon* dalam *crude oil* (asumsi) = 85%

Nilai TPH awal = 5% (50,000 mg/kg; 50 g/kg)

Rasio C: N: P = 100: 10: 1

Kandungan carbon = $0.85 \times 50 \text{ g/kg} = 42.5 \text{ g/kg TTM}$

Kebutuhan nitrogen = $\left(\frac{\text{kandungan carbon}}{\text{rasio C}} \right) \times \text{rasio N}$

$$= \left(\frac{42.5}{100} \right) \times 10$$

$$= 4.25 \text{ gr/kg TTM}$$

Sumber nitrogen yang digunakan = 46% (pupuk urea)

Kebutuhan nutrien urea = $\left(\frac{\text{kebutuhan nitrogen}}{\% \text{ urea}} \right)$

$$= \left(\frac{4.25}{0.46} \right)$$

$$= 9.2 \text{ gr urea/kg TTM}$$

- Menghitung kebutuhan Fosfor (P)

Kebutuhan fosfor = $\left(\frac{\text{kandungan carbon}}{\text{rasio C}} \right) \times \text{rasio P}$

$$= \left(\frac{42.5}{100} \right) \times 1$$

$$= 0.425 \text{ gr/kg TTM}$$

Sumber fosfor yang digunakan = 36% (SP-36; P₂O₅)

Massa molar P₂O₅ = 141.95

Massa molar P = 30.97

Fraksi fosfor dalam P₂O₅ = $\frac{(2 \times \text{massa molar P})}{\text{massa molar P}_2\text{O}_5}$

$$= \frac{(2 \times 30.97)}{141.95} = 0.436$$

Persentase P dalam P2O5

$$= \frac{(\% \text{ fosfor} \times \text{fraksi fosfor dalam P2O5})}{100}$$

$$= \frac{(36 \times 0.436)}{100} = 0.157 \%$$

Sumber fosfor yang digunakan

$$= \left(\frac{\text{kebutuhan fosfor}}{\% \text{ P dalam P2O5}} \right)$$

$$= \left(\frac{0.425}{0.157} \right)$$

$$= 2.7 \text{ gr SP36/kg tanah}$$

Jumlah TTM yang akan diolah

$$= 4,000 \text{ kg TTM (1M}^3 = 800 \text{ kg)}$$

Kebutuhan urea (N) untuk setiap kg TTM yang akan diolah

= kebutuhan nutrisi urea x jumlah TTM yang akan diolah

$$= 37 \text{ kg urea}$$

Kebutuhan fosfor (P) untuk setiap kg TTM yang akan diolah

= kebutuhan nutrisi fosfor x jumlah TTM yang akan diolah

$$= 10.8 \text{ kg fosfor}$$

Dengan menggunakan rumus yang sama didapatkan kebutuhan nutrisi untuk TPH 3% dan 5% sebanyak 5 M³ (4000 kg) tanah terkontaminasi minyak bumi yaitu:

TPH	Rasio C: N: P	N	P
3%	100:10:1	22 kg urea	6.5 kg fosfor
5%	100:10:1	37 kg urea	10.8 kg fosfor
3%	100:5:1	11 kg urea	6.5 kg fosfor
5%	100:5:1	18.5 kg urea	10.8 kg fosfor

Lampiran 2 Perhitungan populasi bakteri dan dosis yang optimal

Variasi	TPC awal (CFU/g)	TPC akhir (CFU/g)	Lonjakan populasi bakteri (CFU/g)	Persentase lonjakan bakteri (%)
TPH 3 %	$1,13 \times 10^6$	$1,29 \times 10^6$	$+1,60 \times 10^5$	+14,2 %
TPH 5 %	$1,24 \times 10^6$	$1,41 \times 10^6$	$+1,70 \times 10^5$	+13,7 %

$$\Delta \log_{10} \text{ referensi} = 0,5 \log_{10} = 3,16 \text{ kali}$$

$$\Delta \log_{10} \text{ penelitian} = \log_{10}(\text{TPC akhir}) - \log_{10}(\text{TPC awal})$$

$$\Delta \log_{10} \text{ penelitian} = \log_{10}(1,29 \times 10^6) - \log_{10}(1,13 \times 10^6)$$

$$\log_{10}(1,29 \times 10^6) = \log_{10}(1,29) + \log_{10}(10^6) = 0,1106 + 6 = 6,11$$

$$\log_{10}(1,13 \times 10^6) = \log_{10}(1,13) + \log_{10}(10^6) = 0,0531 + 6 = 6,05$$

$$\Delta \log_{10} \text{ penelitian} = 6,11 - 6,05 = 0,06$$

$$\Delta \log_{10} \text{ penelitian} (0,06 \log_{10}) < \Delta \log_{10} \text{ referensi} (0,5 \log_{10})$$

Dosis bakteri yang dibutuhkan agar memenuhi $\Delta \log_{10}$ optimal :

	$\Delta \log_{10}$	Lonjakan populasi	Penambahan populasi
Penelitian	0,06	1,14 kali	0,14
Referensi (optimal)	0,5	3,16 kali	2,16

Dosis optimal bakteri :

$$\text{Volume (liter)} = \frac{1 - \text{lonjakan populasi optimal}}{1 - \text{lonjakan populasi penelitian}}$$

$$\text{Volume (liter)} = \frac{2,16}{0,14} = 15 \text{ liter (15 Liter kultur bakteri per } 1 \text{ M}^3 \text{ tanah, masih dicampur dengan 10 Liter air (total 25 L larutan aplikasi per } \text{M}^3\text{)}$$

Lampiran 3 Nilai Baku Mutu Lampiran IX PP No 22 Tahun 2021



PRESIDEN
REPUBLIK INDONESIA

- 2 -

ZAT PENCEMAR	TCLP-A	TK-A	TCLP-B	TK-B	TCLP-C	TK-C
Satuan (berat kering)	(mg/L)	(mg/kg)	(mg/L)	(mg/kg)	(mg/L)	(mg/kg)
Seng, Zn	300	15000	50	3750	20	120
ANION						
Klorida, Cl ⁻	75000	N/A	12500	N/A	5000	N/A
Sianida (total), CN ⁻	21	10000	3,5	2500	1,4	50
Fluorida, F ⁻	450	40000	75	10000	30	450
Iodida, I ⁻	40	N/A	5	N/A	2	N/A
Nitrat, NO ₃ ⁻	15000	N/A	2500	N/A	1000	N/A
Nitrit, NO ₂ ⁻	900	N/A	150	N/A	60	N/A
ORGANIK						
Benzena	3	16	0,5	4	0,2	1
Benzo(a)pirena	0,004	20	0,0005	5	0,0002	0,6
C ₆ -C ₉ petroleum hidrokarbon	N/A	2600	N/A	325	N/A	100
C ₁₀ -C ₃₆ petroleum hidrokarbon	N/A	40000	N/A	5000	N/A	1000
Karbon tetraklorida	1,2	48	0,2	12	0,08	2,5
Klorobenzena	120	4800	15	1200	6	620
Kloroform	24	960	3	240	1,2	R
2 Klorofenol	120	4800	15	1200	2	140
Kresol (total)	800	32000	100	8000	40	R
Di (2 etilheksil) ftalat	2,4	160	0,4	40	0,16	5
1,2-Diklorobenzena	300	24000	50	6000	20	R
1,4-Diklorobenzena	90	640	15	160	6	R
1,2-Dikloroetena	15	48	2,5	12	1	R
1,1-Dikloroetena	12	480	3	120	1,5	R
1-2-Dikloroetena	15	960	2,5	240	1	R
Diklorometana (metilen klorida)	6	64	1	16	0,4	R

2,4-Diklorofenol . . .

SK No 065444 A