

## Asosiasi Konsorsium Bakteri *Pseudomonas Pseudoalcaligenes* dan *Micrococcus Luteus* dengan Lamtoro (*Leucaena Leucocephala* (Lamk.) De Wit) dalam Upaya Meningkatkan Bioremediasi Minyak Bumi

Fenky Marsandi, Sri Pertiwi Estuningsih

Universitas Andalas

Corresponding Author: -

**Abstract:** Penelitian mengenai Asosiasi Konsorsium Bakteri *Pseudomonas pseudoalcaligenes* dan *Micrococcus luteus* dengan Lamtoro (*Leucaena leucocephala* (Lamk.) de Wit) Dalam Upaya Meningkatkan Bioremediasi Minyak Bumi telah dilakukan pada bulan Januari-Maret 2012 di area jurusan Biologi, Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi dan Laboratorium Kimia Analisa Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji kerja sama antara tanaman *Leucaena leucocephala* dengan konsorsium bakteri *Pseudomonas pseudoalcaligenes* dan *Micrococcus luteus* dalam proses bioremediasi minyak bumi dengan menghitung penurunan nilai TPH, jumlah sel bakteri dan pertumbuhan tanaman. Rancangan percobaan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 6 kali ulangan. Dimana penanaman lamtoro dilakukan setelah 4 minggu inokulasi bakteri. Variabel yang diamati yaitu penurunan nilai TPH, jumlah populasi bakteri dan pertumbuhan tanaman. Hasil yang didapat, menunjukkan bahwa perlakuan B3 (inokulasi bakteri *Micrococcus luteus* dan *Pseudomonas pseudoalcaligenes* dan penanaman lamtoro) menghasilkan rata-rata jumlah sel bakteri tertinggi setiap minggunya, penambahan berat basah tertinggi mencapai  $9,67 \pm 2,357$  dan penurunan rata-rata nilai TPH tertinggi yaitu sebesar 2,85%. Sedangkan perlakuan yang terendah pada perhitungan rata-rata jumlah sel bakteri terdapat pada B0 (bioreaktor) dan pada penambahan berat basah tanaman, B1 (lamtoro saja) memiliki nilai yang terendah yaitu 1,55%. Konsorsium bakteri *Micrococcus luteus* dan *Pseudomonas pseudoalcaligenes* menunjukkan kerja sama yang baik dengan lamtoro dalam upaya meningkatkan bioremediasi minyak bumi.

**Keywords:** Asosiasi, Bakteri, Lamtoro, Bioremediasi

### 1. PENDAHULUAN

Lumpur minyak bumi atau *sludge* merupakan salah satu limbah kegiatan eksplorasi dan produksi minyak bumi dan gas. Salah satu kandungan *sludge* minyak bumi adalah senyawa hidrokarbon, yang mempunyai karakter fisik dan kimia tertentu yang dapat menurunkan kualitas lingkungan, meracuni biota, mengganggu rantai makanan dan pada akhirnya mempengaruhi kehidupan manusia (Naufal 2005: 3). Menurut Saleh (2001: 7) karena limbah tersebut berbahaya, maka polutan tidak boleh dibuang langsung ke lingkungan sebelum mendapat penanganan khusus.

Bioremediasi merupakan salah satu teknik pengolahan limbah minyak bumi. Teknik ini dilakukan dengan cara mengeksploitasi kemampuan mikroorganisme untuk mendegradasi senyawa-senyawa organik. Proses biodegradasi hidrokarbon pada umumnya menggunakan bakteri hidrokarbonoklastik yang mampu mengubah senyawa hidrokarbon yang kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana dengan hasil akhir berupa karbondioksida, air dan energi. Metabolisme hidrokarbon oleh populasi mikroorganisme merupakan mekanisme utama untuk menghilangkan

minyak bumi dan polutan hidrokarbon lainnya dari lingkungan (Harfatmanesh *et al.*, 2007: 1).

Penggunaan konsorsium bakteri pada proses bioremediasi minyak bumi dapat mempengaruhi proses degradasi minyak bumi. Hal tersebut disebabkan setiap spesies bakteri membutuhkan substrat yang spesifik untuk mendegradasi keseluruhan komponen penyusun minyak bumi. Pada kultur campur (konsorsium) bakteri akan terjadi dua kemungkinan yang dapat berpengaruh pada proses bioremediasi yaitu sinergisme dan antagonisme. Menurut Aditiawati (2001: 1) bahwa proses sinergisme bakteri kultur campur dapat meningkatkan proses bioremediasi dan sebaliknya jika antagonisme akan terjadi penurunan proses bioremediasi.

Menurut Estuningsih *et al.* (2011: 1) menyatakan dalam proses bioremediasi, beberapa tanaman berasosiasi dengan mikroba untuk menurunkan atau membersihkan pencemar. Menurut Yeung *et al* (1997: 2) bahwa Tanaman-tanaman dapat meningkatkan proses degradasi oleh mikroba dengan memberikan oksigen dalam area akar sepanjang saluran-saluran akar dan memperbesar pori-pori tanah. Molekul oksigen dibutuhkan untuk oksidasi substrat yang merupakan tahap awal dalam

degradasi hidrokarbon. Mikroorganisme distimulasi oleh eksudat akar, dimana tiap-tiap spesies mengeluarkan sejumlah senyawa-senyawa yang berbeda. Perbedaan spesies mempunyai pengaruh yang berbeda pada mikroorganisme dan aktivitas degradasinya, tergantung pada komposisi eksudat-eksudat tanamannya.

Selain itu, tidak mudah menemukan tanaman yang sesuai untuk pertumbuhan bakteri indigeneous dalam mendegradasi minyak bumi terutama pada rantai hidrokarbon yang digunakannya sebagai sumber karbon dan energi. Dari hasil penelitian Rahayu (2011: 35) bahwa dari ke empat tanaman *leguminocea* yang diseleksi, tanaman *Leucaena leucocephala* pada konsentrasi 6% merupakan tanaman yang paling baik dalam menurunkan kadar TPH minyak bumi yaitu sebesar 2,815% selama 12 minggu.

Berdasarkan hasil penelitian Handiana (2009: 2) bahwa bakteri *Micrococcus luteus* dan *Pseudomonas pseudoalcaligenes* mampu menurunkan nilai TPH *sludge* minyak bumi. Dari hasil penelitian Yudono (2011: 73) dilaporkan bahwa bakteri *Micrococcus luteus* dan *Pseudomonas pseudoalcaligenes* mampu menurunkan persentase TPH minyak bumi masing-masing sebesar 35,41% dan 38,26%.

Bakteri mampu meningkatkan proses degradasi hidrokarbon minyak bumi dan mengakumulasi CO<sub>2</sub> yang cukup tinggi. Sedangkan kemampuan tanaman dalam menurunkan kadar TPH minyak bumi terbatas, tetapi tanaman dapat memanfaatkan CO<sub>2</sub> untuk proses fotosintesis. Dengan demikian, kerja sama antara konsorsium bakteri dengan tanaman merupakan solusi dalam upaya meningkatkan proses bioremediasi minyak bumi.

## 2. BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai dengan April 2012. Tempat penelitian di Area Jurusan Biologi, Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Kimia Analisa Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah aerator, *aluminium foil*, autoklaf, ayakkan tanah, batang pengaduk, baskom, bunsen, cawan petri, *colony counter*, dandang, derigen, ember besar, erlenmeyer, gelas beker, gelas ukur, *hot plate*, *incubator*, jarum ose, kamera digital, kapas, karet, kertas label, kompor, *magnetic stirrer*, masker, pipet serologis, pipet tetes, polybag, sarung tangan, sendok semen, *sentrifuge*, *shaker*, *soil tester*, *tension ball*, timbangan analitik dan tabung reaksi.

Bahan-bahan yang diperlukan yaitu alkohol 70%, aquadest, bakteri hidrokarbonoklastik (*Micrococcus luteus* dan *Pseudomonas pseudoalcaligenes*), kloroform, limbah minyak bumi yang diambil dari PT Pertamina UBEP Limau Prabumulih wilayah Sumatera Selatan, medium zobell padat dan cair, methanol, pupuk (NPK, KCL dan TSP), serbuk kayu, tanah segar yang telah diayak dan tumbuhan *Leucaena leucocephala*.

## Rancangan Percobaan

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan perlakuan sebagai berikut:

B<sub>0</sub>: Tanpa agen biologis (Kontrol)

B<sub>1</sub>: Lamtoro saja

B<sub>2</sub>: Bakteri *Micrococcus luteus* + Bakteri

*P. pseudoalcaligenes*

B<sub>3</sub>: Bakteri *Micrococcus luteus* + Bakteri *Pseudomonas pseudoalcaligenes* + Lamtoro

Perlakuan masing-masing dilakukan pengulangan sebanyak 6 kali, sehingga akan menghasilkan 24 unit percobaan.

## Cara Kerja

### Pembuatan Starter Bakteri

#### Pembuatan Medium Zobell

Komposisi medium Zobell (Pepton 5 gr, ekstrak ragi 1 gr, FeSO<sub>4</sub> 0,01 gr, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,012 gr dan aquades 1000 ml). Semua bahan dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan menambahkan 1 liter aquadest lalu ditutup dengan *aluminium foil* dan dididihkan dengan *hot plate* dengan menggunakan *magnetic stirrer* agar semuanya larut, selanjutnya diisikan pada tabung reaksi sebanyak 7 ml, disumbat mulut tabung reaksi dengan kapas yang sudah dibungkus dengan *aluminium foil*, disterilkan dalam autoklaf (Modifikasi Hadioetomo 1990: 74).

#### Peremajaan Bakteri

Bakteri *Micrococcus luteus* dan *Pseudomonas pseudoalcaligenes* diinokulasikan secara aseptis ke dalam agar miring Zobell (Lampiran 1), dengan cara meletakkan jarum ose yang mengandung biakan pada dasar kemiringan agar dan ditarik dengan gerakan zig zag, lalu diinkubasi pada suhu kamar 37°C selama 48 jam, sehingga nantinya akan diperoleh kultur stok dan kultur kerja yang siap untuk dipakai (Hadioetomo 1990: 36).

#### Pembuatan Starter Bakteri

Pembuatan starter kultur campur bakteri diawali dengan pembuatan 6 liter medium zobell cair. Kemudian ditimbang *sludge* 1% untuk dicampurkan ke dalam medium zobell tersebut. Selanjutnya, medium zobell cair dimasak di atas *hot plate* kemudian disterilkan dengan menggunakan autoclaf. Medium zobell cair yang telah steril dimasukkan ke dalam derigen bersih yang telah dipasang aerator. Diinokulasikan bakteri bakteri *Micrococcus luteus* terlebih dahulu yang memiliki waktu generasi 6 jam sebanyak 18 ose. Kemudian setelah 3 jam diinokulasikan bakteri *Pseudomonas pseudoalcaligenes* sebanyak 18 ose (waktu generasi terpendek 3 jam). Kemudian starter bakteri siap untuk diinokulasi ke dalam bioreaktor.



*Persiapan Bibit Lamtoro*

Persiapan tumbuhan *Leucaena leucocephala* dilakukan selama 8 minggu agar dapat ditanam di dalam bioreaktor. Penanaman jenis tumbuhan lamtoro ini dilakukan di dalam polybag, dengan tahapan penyemaian biji dan selanjutnya setelah berumur 4 minggu dilakukan penugalan tanaman dengan cara menanam 1 tanaman perpolybag.

*Persiapan Bioreaktor Dan Inokulasi Bakteri*

Tanah disterilkan terlebih dahulu di dalam sebuah dandang besar dengan menggunakan kompor, dengan cara mengukus tanah pada suhu  $\pm 90^{\circ}\text{C} - 100^{\circ}\text{C}$  selama 12 jam. Kemudian dimasukkan bahan-bahan yang telah disiapkan dengan komposisi sebagai berikut: tanah 8,1048 kg (81,048%), pupuk 0,2202 kg (2,202%) yang terdiri dari KCL, TSP, dan NPK dengan perbandingan N: P: K (rasio 10: 1: 0,1) serta 1 kg (10%) *bulking agent* berupa serbuk kayu yang tidak mengandung resin, kemudian diaduk hingga homogeny. Ditambahkan *sludge* limbah minyak bumi dengan konsentrasi TPH 6,75 kg (6%) sesuai dengan perlakuan sehingga total bioreaktor menjadi 10 kg (100%). Masing-masing bioreaktor diinokulasikan 0,5 liter (5%) starter kultur campur bakteri indigen (populasi bakteri minimum  $10^6$  cfu/ml kultur).

Bioreaktor diinkubasi pada suhu kurang lebih  $30^{\circ}\text{C}$  dan media dijaga kelembabannya berkisar pada 40% dan pH 6,5-6,8 dengan pengadukkan secara kontinyu sekali sehari selama  $\pm 8$  minggu.

*Penanaman Dan Pemeliharaan Tanaman Pada Bioreaktor*

Bioreaktor yang telah diinokulasi bakteri selama 4 minggu kemudian ditanam lamtoro. Lamtoro yang ditanam dipilih yang sedang dalam fase vegetatif. Pemeliharaan dilakukan selama 1 bulan dengan cara dijaga kondisi pH dan kelembabannya, disiram sehingga kelembabannya mencapai 40-50% dan dilakukan pencabutan gulma jika diperlukan.

*Variabel Pengamatan*

Variabel pengamatan yang diukur adalah : (1) Jumlah sel bakteri; (2) Penurunan nilai TPH dan (3) Pertumbuhan tanaman.

Jumlah sel bakteri

Setiap 1 minggu sekali dihitung bakteri melalui jumlah koloninya dengan menggunakan *colony counter*. Perhitungan jumlah bakteri didasarkan pada metode pengenceran *plating* agar untuk memonitor jumlah bakteri dalam sampel (Mesarch & Nies, 1997). Dari setiap perlakuan dihitung jumlah bakteri dalam satuan cfu/gram. Perhitungan jumlah sel bakteri dengan hitungan cawan (*pour plate*) menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN) digunakan untuk menghitung jumlah bakteri pendegradasi hidrokarbon (Wrenn *et al*, 1994).

Pengukuran nilai TPH

Pengukuran TPH dilakukan dengan menggunakan metode garavimetri. *Sludge* ditimbang setelah

terlebih dahulu 5 gram sampel diekstrak dengan *n*-heksana. Kandungan air pada ekstrak sampel dihilangkan dengan menambahkan  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidrat, sedangkan pelarut dihilangkan dengan radas penguap putar. Setelah itu, ekstrak pekat dipanaskan selama 45 menit pada suhu  $70^{\circ}\text{C}$ , didinginkan dalam eksikator dan ditimbang. Sampel hasil pengeringan dilarutkan kembali dengan *n*-heksana dan ditambahkan silika gel untuk menghilangkan senyawa-senyawa polar kemudian disaring. Pelarut diuapkan kembali dan dipanaskan selama 45 menit pada suhu  $70^{\circ}\text{C}$  (Alef & Nanpieri 1995 dalam Raislid & Burke 2000). Menurut Nurhariyati dkk. (2006: 2) untuk menghitung nilai degradasi limbah minyak bumi, dapat dilakukan melalui pengukuran penurunan nilai TPH dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Nilai TPH} = \text{TPH Awal} - \text{TPH akhir}$$

Sumber: (Nurhariyati dkk. 2006: 2)

Pertumbuhan Lamtoro

Pertumbuhan lamtoro diamati pada akhir penelitian (2 bulan) dengan menimbang berat basah tanaman, dimana berat basah tanaman ditentukan dengan cara berat basah akhir tanaman dikurangi dengan berat awal tanaman yang dilakukan pada pagi hari.

*Analisis Data*

Data jumlah bakteri disajikan dalam bentuk grafik dan data penurunan nilai TPH minyak bumi serta data pertumbuhan tanaman dilakukan analisis varian. Jika terdapat perbedaan yang nyata dilakukan uji wilayah berganda Duncan pada taraf  $\alpha 0,05$ .

**3. HASIL DAN PEMBAHASAN**

Waktu Pengamatan (minggu)	Perlakuan			
	B0	B1	B2	B3
T1	7,5 x $10^7$	7,3 x $10^7$	9,6 x $10^7$	10,6 x $10^7$
T2	10,3 x $10^7$	11,3 x $10^7$	17,0 x $10^7$	23,0 x $10^7$
T3	8,5 x $10^7$	8,8 x $10^7$	12,6 x $10^7$	13,1 x $10^7$
T4	7,0 x $10^7$	8,6 x $10^7$	8,9 x $10^7$	9,0 x $10^7$
T5	6,2 x $10^7$	6,7 x $10^7$	7,8 x $10^7$	7,6 x $10^7$
T6	6,3 x $10^6$	9,1 x $10^6$	6,2 x $10^6$	7,8 x $10^6$
T7	9,9 x $10^5$	6,8 x $10^6$	5,9 x $10^6$	7,0 x $10^6$
T8	8,7 x $10^5$	6,5 x $10^6$	5,1 x $10^6$	7,1 x $10^6$

Keterangan :

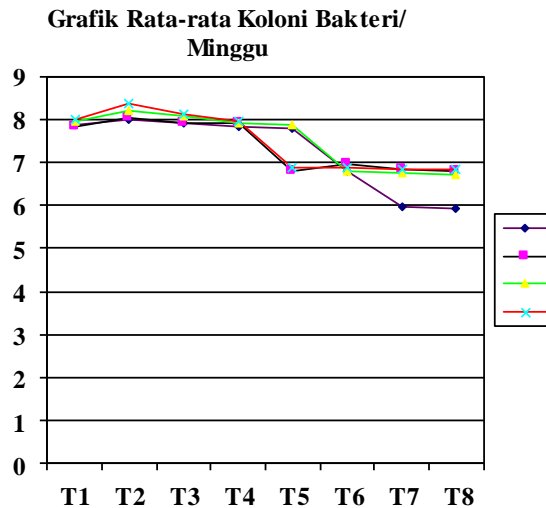
B0: Tanpa agen biologis (Kontrol)

B1: Lamtoro saja

B2: Bakteri *Micrococcus luteus* + Bakteri *Pseudomonas pseudoalcaligenes*

B3: Bakteri *Micrococcus luteus*+Bakteri *Pseudomonas pseudoalcaligenes* + Lamtoro





Gambar 4.1. Grafik rata-rata jumlah koloni bakteri selama 8 minggu pengamatan

Pada tabel 4.1 dan gambar 4.1. menunjukkan bahwa pada minggu pertama jumlah sel bakteri, pada B0 (kontrol) dan perlakuan B1, B2 dan B3 menunjukkan jumlah yang berbeda dan lebih rendah bila dibandingkan dengan minggu ke-2 (T2) dan minggu ke-3 (T3). Hal tersebut disebabkan bakteri yang ada di bioreaktor sedang melanjutkan adaptasi yang sebelumnya telah dilakukan pada medium starter bakteri. Menurut Effendi (2011: 4) pada medium starter, sel bakteri menunjukkan indikasi adanya kegiatan metabolisme yang dilakukan bakteri. Bakteri akan memanfaatkan komponen yang berupa nutrisi dan oksigen pada medium untuk pertumbuhannya agar lebih adaptif. Dengan demikian waktu yang dibutuhkan untuk fase adaptasi selanjutnya tidak begitu lama. Menurut Brock & Madigan (1991: 45). Pada fase adaptasi, terjadi peningkatan ukuran sel, dimulai pada waktu sel tidak atau sedikit mengalami pembelahan. Kondisi ini, ditandai dengan peningkatan komponen makromolekul, aktivitas metabolik, dan kerentanan terhadap zat kimia dan faktor fisik. Kondisi seperti ini juga disebut dengan fase lag yang merupakan suatu periode penyesuaian yang sangat penting untuk penambahan metabolit pada kelompok sel, menuju tingkat yang setaraf dengan sintesis sel maksimum.

Pada semua perlakuan diminggu ke-2, terjadi peningkatan jumlah sel bakteri, pada perlakuan B0 dan B1 serta B2 dan B3. Hal tersebut disebabkan bakteri mulai memasuki fase logaritmik. Sel bakteri akan terus membelah menjadi banyak dengan memanfaatkan senyawa hidrokarbon secara enzimatik sebagai sumber nutrisi utama. Menurut Irianto dkk (2003: 2) Pada fase eksponensial atau logaritmik, sel berada dalam keadaan pertumbuhan yang seimbang. Selama fase ini, masa dan volume sel meningkat oleh faktor yang sama dalam arti rata-rata komposisi sel dan konsentrasi relatif metabolit tetap konstan. Selama periode ini juga terjadi pertumbuhan yang seimbang dan kecepatan peningkatan dapat diekspresikan dengan fungsi eksponensial alami. Sel

membelah dengan kecepatan konstan yang ditentukan oleh sifat intrinsik bakteri dan kondisi lingkungan.

Jumlah rata-rata sel bakteri pada bioreaktor kontrol dan semua perlakuan mulai mengalami penurunan pada minggu ke-3 dan minggu ke-4 sebelum penanaman lamtoro. Hal tersebut menandakan bahwa bakteri mengalami fase stasioner, bakteri pertumbuhannya mulai lambat. Akumulasi produk limbah, kekurangan nutrisi, perubahan pH, dan faktor lainnya akan mendesak dan mengganggu biakan, mengakibatkan penurunan kecepatan pertumbuhan. Menurut Pelczar & Chan (2008: 32) pada fase ini pertumbuhan bakteri diperlambat, hal tersebut disebabkan zat nutrisi di dalam medium sudah mulai berkurang dan adanya zat-zat hasil metabolisme yang mungkin beracun atau dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Setelah ditanam lamtoro, bioreaktor kontrol (B0) menunjukkan jumlah rata-rata sel bakteri terkecil dibandingkan dengan perlakuan B1, B2 dan B3. Jumlah sel bakteri paling rendah pada bioreaktor kontrol adalah  $8,7 \times 10^5$  cfu/ml pada minggu ke-8. Pada bioreaktor kontrol (B0) diduga ketersediaan nutrisi makanan bakteri autokton (alamiah) sudah semakin berkurang. Tidak adanya sumber nutrisi lain pada bioreaktor menyebabkan banyaknya sel bakteri yang mati. Menurut Brock & Madigan (1991: 45) pada saat nutrient mulai habis, populasi sel bakteri akan menurun jumlahnya. Pada saat ini jumlah sel yang mati lebih banyak daripada sel yang hidup. Hal ini diperkuat oleh Pelczar & Chan (2008: 33) kecepatan kematian pada suatu mikroorganisme juga dipengaruhi oleh energi cadangan di dalam sel yang telah habis, senyawa toksik yang dihasilkan oleh campuran populasi suatu mikroorganisme dan jenis mikroorganisme tersebut dapat mengakibatkan jumlah sel yang mati semakin lama akan semakin banyak.

## Pertambahan Berat Basah

Berdasarkan ANAVA, perlakuan yang dicobakan berpengaruh tidak nyata terhadap rata-rata pertambahan berat basah tanaman lamtoro ( $F_{hitung} < F_{tabel}$ ) lampiran 3 (tabel L.3). Hal tersebut diduga karena senyawa hasil degradasi hidrokarbon oleh bakteri belum cukup memberikan tambahan nutrisi untuk pertambahan berat basah tanaman.

Tabel. 4.2. Pertambahan Berat Basah tanaman Lamtoro setelah 30 hari fitoremediasi pada konsentrasi 6% *sludge* minyak bumi.

Perlakuan	Rata-rata Pertambahan Berat Basah (gr)
B1 (lamtoro)	$8,83 \pm 1,863$
B3 (lamtoro+bakteri)	$9,67 \pm 2,357$

Berdasarkan rata-rata penambahan berat basah tanaman (tabel. 4.2.) diperoleh hasil bahwa perlakuan B3 menunjukkan penambahan rata-rata berat basah tanaman yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan B1. Hal tersebut diduga disebabkan jumlah bakteri di B3 lebih tinggi (tabel 4.2). Bakteri mampu bersinergi dengan tanaman lamtoro dalam memanfaatkan nutrisi yang tersedia di dalam bioreaktor. Semakin banyak jumlah populasi bakteri hidrokarbonoklastik di daerah rizosfer akar suatu tanaman maka akan semakin banyak senyawa CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, dan energi yang dihasilkan sebagai produk akhir metabolisme senyawa hidrokarbon *sludge* minyak bumi. Menurut Chaineau (2005: 16) bahwa semakin banyak sumber nutrisi dan suplai air yang tersedia, maka kompetisi antar bakteri maupun bakteri dan tanaman akan menurun. Ketersediaan suatu nutrient dapat menstimulasi pertumbuhan dan aktivitas bakteri yang telah teradaptasi polutan. Menurut Yudono (2011: 36) bahwa kecocokkan kerja sama antara tanaman dan mikroba mengakibatkan kedua agen bioremediasi tersebut menjadi teradaptasi terhadap konsentrasi toksisitas polutan. Proses bioremediasi yang menghilangkan toksisitas polutan juga memberikan kontribusi perkembangan mikroba rizosfer dan pertumbuhan tanaman yang dipicu oleh hormon yang dihasilkan oleh mikroba (PGPR).

Pada perlakuan B1 rata-rata penambahan berat basah tanaman lamtoro mencapai 8,83 gram. Perlakuan B1 menunjukkan rata-rata penambahan berat basah tanaman yang lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan B3. Bakteri autokton (alamiah) dengan jumlah yang lebih sedikit (tabel 4.2) mengakibatkan produksi H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub> dan energi yang dibutuhkan tanaman menjadi sedikit sehingga proses fotosintesa menjadi terbatas. Akibatnya pertumbuhan tanaman menjadi lebih rendah. Menurut Suharno (2007: 34) proses fotosintesa merupakan proses pengubahan zat anorganik H<sub>2</sub>O dan CO<sub>2</sub> oleh klorofil menjadi zat organik (karbohidrat) dengan bantuan cahaya matahari yang menyebabkan pertumbuhan pada tanaman. Menurut Harfatmanesh (2007: 1) proses biodegradasi senyawa hidrokarbon oleh bakteri mampu mengubah senyawa hidrokarbon yang kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana dengan hasil akhir berupa karbondioksida, air dan energi. Dengan demikian, semakin sedikit aktivitas bakteri hidrokarbonoklastik pada suatu medium tumbuh tanaman maka akan semakin sedikit CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O dan energi yang diperoleh tanaman untuk melakukan fotosintesis sehingga pertumbuhan tanaman kurang optimal.

### Penurunan Nilai TPH

Nilai TPH (Total Petroleum Hidrokarbon) merupakan nilai total senyawa hidrokarbon petroleum yang terkandung di dalam limbah minyak bumi. Interaksi perlakuan inokulasi konsorsium bakteri pada bioreaktor dan penanaman lamtoro berpengaruh nyata terhadap penurunan nilai TPH. Hal ini dikarenakan walaupun tumbuhan bersifat autotrof dan tidak bisa secara langsung

memanfaatkan karbon dari limbah minyak bumi namun dapat bekerjasama dengan bakteri atau mikroba dalam memanfaatkan limbah hidrokarbon tersebut. Berdasarkan uji lanjut Duncan 5% terhadap penurunan nilai TPH pada semua perlakuan disajikan dalam Tabel 4.3.

Tabel 4.3. Penurunan nilai TPH *sludge* minyak bumi

Perlakuan	TPH		Penurunan nilai TPH (%)
	TPH Awal (%)	TPH Akhir (%)	
B0	6	4,15	1,85 <sup>bc</sup>
B1	6	3,81	2,19 <sup>ab</sup>
B2	6	4,45	1,55 <sup>c</sup>
B3	6	3,42	2,85 <sup>a</sup>

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada tiap kolom menunjukkan berbeda tidak nyata pada uji lanjut Duncan 5%

Pada tabel 4.3. menunjukkan bahwa adanya kecenderungan penurunan nilai TPH pada tiap perlakuan. Terjadinya penurunan nilai TPH disebabkan adanya degradasi polutan oleh bakteri. Bakteri mampu mendegradasi komponen minyak bumi melalui aktifitas metabolismenya karena kemampuannya mengoksidasi hidrokarbon dan menjadikannya sebagai sumber karbon dan energi. Menurut Alexander (1977: 211) persentase degradasi hidrokarbon minyak bumi dalam proses bioremediasi, berkaitan dengan proses degradasi enzimatis yang dilakukan bakteri, bakteri hidrokarbonoklastik menghasilkan enzim monooksidase dan dioksigenase, berperan mendegradasi komponen hidrokarbon minyak bumi menjadi fraksi yang lebih sederhana.

Berdasarkan uji lanjut DNMRT pada tabel 4.3, perlakuan B3 (inokulasi konsorsium bakteri dan penanaman lamtoro) berbeda nyata dengan perlakuan B0 (tanpa agen) dan B2 (diinokulasi bakteri eksogen). Kinerja proses bioremediasi pada perlakuan B3 menunjukkan bahwa antara bakteri dengan tanaman lamtoro memiliki kesinergisan yang mengakibatkan meningkatnya penurunan nilai TPH. Menurut Yudono (2011: 87) menyatakan bahwa tanaman melalui eksudat akar membantu mensuplai energi, nutrisi dan oksigen untuk pertumbuhan bakteri melalui pembuluh akar tanaman tersebut sehingga aktivitas bakteri dalam mendegradasi hidrokarbon minyak bumi menjadi lebih tinggi.

Penurunan nilai TPH pada perlakuan B0 berbeda tidak nyata dengan perlakuan B2 (Tabel 4.3.). Berdasarkan rata-rata penurunan nilai TPH pada perlakuan B0 dan B2 terjadi penurunan yang semakin kecil. Hal ini disebabkan pada B0 dan B2 tidak ada suplai nutrisi dari lamtoro (tabel 4.3). Ketersediaan nutrisi terbatas dan jumlah mikroba semakin sedikit sehingga aktivitasnya menjadi menurun. Menurut Nugroho (2006: 2) bakteri dalam aktivitas hidupnya memerlukan molekul karbon dari limbah minyak bumi sebagai salah satu sumber nutrisi dan energi untuk melakukan metabolisme dan perkembangbiakannya. Sehingga untuk

mempertahankan hidupnya, bakteri bergantung pada ketersediaan nutrisi pada limbah minyak bumi. Menurut Atlas & Bartha (1998: 25) tanaman akan mengeluarkan cairan eksudat akar yang terdiri dari karbon, energi, nutrient, enzim, alkohol, gula dan asam-asam organik yang merupakan 10-20% hasil fotosintesis tanaman. Eksudat tanaman tersebut menyediakan energi dan karbon yang cukup bagi mikroba. Adanya cairan akar ini mengakibatkan jumlah sel bakteri semakin meningkat. Sebaliknya tidak adanya cairan eksudat (nutrisi tambahan) menyebabkan jumlah sel bakteri semakin sedikit sehingga aktivitas degradasi senyawa hidrokarbon *sludge* minyak bumi menjadi lebih rendah.

Pada perlakuan B1 berbeda tidak nyata dengan perlakuan B3 (tabel 4.3). Hal ini menunjukkan bahwa penanaman lamtoro pada perlakuan B1 dan B3 sama-sama mampu meningkatkan penurunan kadar TPH minyak bumi. Menurut Atlas & Bartha (1998: 25) penanaman suatu tanaman yang sesuai akan memberikan energi tambahan bagi pertumbuhan bakteri untuk melakukan aktivitas degradasi. Pada daerah rizosfer akar banyak terdapat jumlah dan aktivitas mikroba yang sangat tinggi karena adanya pelepasan cairan (eksudat) akar tanaman sebagai nutrisi tambahan bagi mikroba untuk melakukan aktivitas enzimatik dalam mendegradasi *sludge* minyak bumi. Dengan demikian memungkinkan nilai TPH minyak bumi akan turun.

Perlakuan B1 dan B3 berbeda nyata dengan perlakuan B0 dan B2. Terjadi peningkatan pada perlakuan B1 dan B3 dibandingkan dengan B0 dan B2, walaupun pada bioreaktor B2 telah diinokulasi bakteri petrofilik secara eksogen. Menurut Rao (1998: 24) bahwa pada tanah yang terkontaminasi *sludge* minyak bumi terdapat bakteri autohton yang memanfaatkan senyawa hidrokarbon sebagai sumber nutrisi alami. Bakteri tersebut merupakan kelompok bakteri hidrokarbonoklastik yang secara alamiah telah ada di dalam *sludge* minyak bumi.

#### 4. KESIMPULAN

Hasil bioremediasi hidrokarbon *sludge* minyak bumi menggunakan kultur campur bakteri dan lamtoro diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

- Perlakuan (penanaman lamtoro dan inokulasi konsorsium bakteri) menunjukkan berpengaruh tidak nyata terhadap berat basah tanaman lamtoro dan berpengaruh nyata terhadap penurunan nilai TPH minyak bumi.
- Perlakuan B3 (inokulasi konsorsium bakteri dan penanaman lamtoro) pada bioreaktor menghasilkan nilai tertinggi baik pada perhitungan jumlah sel bakteri, pertambahan berat basah tanaman maupun penurunan nilai TPH minyak bumi.
- Kerja sama antara konsorsium bakteri *Micrococcus luteus* dan bakteri *Pseudomonas pseudoalcaligenes* dengan *Leucaena leucocephala* dapat meningkatkan bioremediasi minyak bumi.

penemuannya.

#### 5. SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kemampuan masing-masing jenis bakteri dengan tanaman dalam proses fitoremediasi.

#### 6. DAFTAR PUSTAKA

- RAAditiawati, P., Pikoli, M.R., Indriani, A.D. (2001). *Isolasi Bertahap Bakteri Pendegradasi Minyak Bumi dari Sumur Bangko*. Proceeding Simposium Nasional IATMI. Institute Teknologi Bandung: 8 hlm.
- Alexander, M. (1999). *Biodegradation and bioremediation*, 2<sup>nd</sup> edn. Academic Press. London.
- Atlas, R. M & Bartha, R. (1997). *Microbial Ecology: Fundamentals and Applications 4<sup>th</sup> ed.* Benjamin Cumming Publishing. Co. Inc. Reedwood City. California. 563 hlm.
- Brock, T.D & M.T. Madigan. (1991). *Biology of Microorganisms. Sixth Edition*. United States. Prentice-Hall, Inc.
- Chaîneau, C. H. (2005). Effect of Nutrient concentration on the biodegradation of crude oil and associated microbial population in the soil. *Soil Biol*: 1497 p.
- Efendi, Zahrial. (2010). In Vitro Fenol Bioremediation By Isolates of Indigenous Bacteria On Medium with Agitation and ratio of N and P. *Jurnal Penelitian Sains*
- Estuningsih, Sri Pertiwi, Bambang, Y., Hary, W., (2010). Pemanfaatan Rumput *Fimbristylis* sp. dalam Proses Bioremediasi Tanah pada Berbagai Konsentrasi Limbah Minyak Bumi. *Jurnal Matematika dan Sains*. FMIPA Universitas Sriwijaya, Indralaya. Vol. 14 Nomer I (D) 14113.5 hlmn.
- Hadioetomo, R.S. (1990). *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Gramedia. Jakarta. 163 hlm.
- Herfatmanesh, A., Minai, and D.Tehrani. (2007). *Biodegradation of Aliphatic and Aromatic Fractions of Heavy Crude Oil-Contaminated Soil: A Pilot Study*. *Bioremediation Journal*., 11 (2): 71-79.
- Irianto, A., Oedjijono & Sukanto. (1999). *Bioremediasi in Vitro Tanah Tercemar Hidrokarbon menggunakan Bacillus strain local*. Laporan Hasil Penelitian Fakultas Biologi Universitas Jendral Soedirman. Poerwokerto: 1-13 hlm.
- Naufal, S. (2005). *Pengaruh Mikroorganisme Eksogen Terhadap Pengolahan Lumpur Minyak Bumi* (Studi Kasus: Bioremediasi di Terminal Tanjung Santan-Balik Papan, Kalimantan Timur). Tesis Magister Program Study Kajian Ilmu Lingkungan. Universitas Indonesia. Jakarta: iii + 148 hlm.
- Nugroho, A. (2006). *Biodegradasi Sludge Minyak Bumi dalam Skala Mikrokosmos: Simulasi*



- Sederhana Sebagai Kajian Awal Bioremediasi Land Treatment. *Jurnal Makara Teknologi*. Vol.10, no. 2: 82-89 hlm.
- Nurhariyati, T., Ni'matuzahroh, Sustiningsih, T. (2006). Biodegradasi Minyak Oleh *Rhodotorula* dan *Candida* Hasil Isolasi dari Pelabuhan Tanjung Perak Surabaya. *Jurnal Penelitian Hayati. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Airlangga*. No.12.hlm.27-31.
- Pelczar, M.J & Chan, E.S.C. (2008). *Dasar-Dasar Mikrobiologi 1*. UI Press. Jakarta: 443 hlm.
- Rao, N.S., Subba. (1994). *Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman*. Edisi Kedua. Jakarta. UI-Press.
- Saleh, A. (2001). *Proses Pengolahan Limbah Cair Hasil Pengeboran Minyak Bumi dengan Metode Cakram Biologi Putar*. Universitas Sriwijaya. Palembang: 7 hlm.
- Suharno., Sri, Maryati., Bambang, S. (2007). *Biology*. Erlangga. Jakarta : IV + 205 hlm.
- Yeung, P.Y. (19970. Biodegradation and Bioremediation: Biodegradation of Petroleum Hydrocarbons in Soils as Affected by Heating and Forced Aeration. *J. Environ. Qual.* 26.1511.
- Yudono, B. (2011). *Disertasi: Sinergi Bakteri Tanah dan Tanaman Pada Proses Bioremediasi Tanah Terkontaminasi Minyak Bumi*. Universitas Sriwijaya. Palembang: i + 156 hlm.

**Saran:**

agar dapat dilakukan penelitian terhadap masing-masing bakteri (kemampuan) isolat tunggal yang berasosiasi dengan lamtoro dalam rangka meningkatkan bioremediasi minyak bumi