

The Effect of Hydrocarbonoclastic Bacteria Bioaugmentation (*Bacillus* sp. & *Alcaligenes* sp.) toward Soil pH

Pengaruh Bioaugmentasi Bakteri Hidrokarbonoklastik (*Bacillus* sp. & *Alcaligenes* sp.) terhadap pH Tanah

Marcloryne Agnesia^{1*}, Yuni Ahda¹

¹Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Negeri Padang, West Sumatera, Indonesia

*Corresponding author: marcloryne25agnesia@gmail.com

ABSTRACT: The used lubricant oil is one of the petroleum derivatives which contains an alkane group with 17-22 carbon atoms. In general, petroleum waste has not been managed optimally. One of the effective methods of combating petroleum waste is by involving hydrocarbonoclastic bacteria. The purpose of this research is to determine the effect of hydrocarbonoclastic bacteria bioaugmentation on soil pH values. This research was conducted in June until December 2018. This study used a single indigenous bacterium and consortium (*Bacillus* sp. and *Alcaligenes* sp.) which was isolated from contaminated soil by Ahda and Fitri (2016). pH measurements were carried out on the 1st, 2nd, 3rd, 4th, 5th and 6th week. The results showed that the amount of bioaugmentation affected the soil pH value in the third week, and the type of bacteria began to affect the soil pH in the sixth week. The results of this study indicate that bioaugmentation affects the pH value of used oil contaminated soil.

Key words: *Alcaligenes* sp., *Bacillus* sp., Bioaugmentation, Hydrocarbons, pH

ABSTRAK: Minyak pelumas bekas merupakan salah satu turunan minyak bumi yang mengandung gugus alkana dengan 17-22 atom karbon. Secara umum limbah minyak bumi belum dikelola secara optimal. Salah satu cara efektif penanggulangan limbah minyak bumi adalah dengan melibatkan bakteri hidrokarbonoklastik. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh bioaugmentasi bakteri hidrokarbonoklastik terhadap nilai pH tanah. Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni hingga Desember 2018. Penelitian ini menggunakan satu bakteri dan konsorsium indigenous (*Bacillus* sp. dan *Alcaligenes* sp.) yang diisolasi dari tanah tercemar oleh Ahda dan Fitri (2016). Pengukuran pH dilakukan pada minggu ke-1 ke-3, ke-4, ke-5 dan ke-6. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah bioaugmentasi mempengaruhi nilai pH tanah pada minggu ketiga, dan jenis bakterinya mulai mempengaruhi pH tanah pada minggu keenam. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa bioaugmentasi berpengaruh terhadap nilai pH tanah tercemar minyak bekas.

Kata kunci: *Alcaligenes* sp., *Bacillus* sp., Bioaugmentasi, Hidrokarbon, pH



Pendahuluan

Komarawidjaja (2009) mengatakan bahwa minyak bumi merupakan salah satu sumber energi utama dalam kehidupan yang mengandung hidrokarbon. Minyak pelumas bekas merupakan salah satu senyawa hidrokarbon golongan alkana yang mengandung 17-22 atom karbon (Efendi, 2003).

Pada umumnya limbah minyak bumi belum dikelola dan dimanfaatkan secara optimum. Banyak limbah yang langsung dibuang ke lingkungan, sehingga akan mengakibatkan terjadinya pencemaran lingkungan, seperti pencemaran tanah (Zam, 2011). Menurut Atlas dan Bartha (1992), pengelolaan dengan menggunakan organisme merupakan alternatif penanggulangan limbah minyak bumi yang murah, efektif, ramah lingkungan dan menyebabkan terjadinya degradasi limbah yang menghasilkan senyawa akhir stabil dan tidak beracun, namun metode ini membutuhkan waktu yang lebih lama dibandingkan dengan cara fisika atau kimia. Walaupun mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon tersebar luas di alam, bioaugmentasi dianggap sebagai strategi untuk mempercepat proses bioremediasi minyak sejak tahun 1970-an.

Menurut Atlas dan Bartha dalam Nugroho (2009), aktivitas metabolisme bakteri dalam proses biodegradasi minyak bumi dapat menghasilkan asam lemak sebagai produk akhirnya. Hal ini dapat menjadi pemicu berubahnya pH tanah setelah terjadinya proses bioremediasi.

Sopiah (2012), mengatakan bahwa pengaruh lingkungan seperti pH, temperatur, dan kelembaban tanah berperan dalam menentukan kesuksesan proses bioremediasi. Cookson dalam Ali (2009), menyebutkan bahwa sebagian besar mikroorganisme dapat tumbuh dengan baik pada kondisi pH netral sampai pH alkali. Namun pada umumnya mikroorganisme dapat tumbuh secara optimum pada kondisi pH 6-9, meskipun ada pula mikroorganisme yang tumbuh dengan optimum di atas range pH tersebut dan kurang dari pH 5 (Eweis *et al.* dalam Ali, 2009).

Penelitian ini dilakukan untuk melihat pengaruh proses bioremediasi. Proses ini dilihat setelah dilakukan teknik bioaugmentasi beberapa jenis bakteri hidrokarbonoklastik yang telah diisolasi oleh Ahda dan Fitri (2016), terhadap nilai pH tanah tercemar minyak pelumas bekas.

Bahan dan Metode

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah jalum inokulasi, tabung reaksi, erlenmeyer, kompor listrik, vortex, bunsen, batang pengaduk, autoklav, shaker inkubator, timbangan analitik, penyiram tanaman dan pH meter. Sedangkan bahan yang digunakan adalah tanah, pupuk kompos kotoran sapi 3%, 5% minyak pelumas bekas, polybag, label objek, aquadest netral, medium NA (*Nutrient Agar*), NB (*Nutrient Broth*), MSM (*Mineral Salt Medium*), isolat bakteri hidrokarbonoklastik *Bacillus* sp. dan *Alcaligenes* sp.

Prosedur Penelitian

Sterilisasi

Semua alat dan bahan yang tahan panas disterilisasi di dalam autoklav.

Pembuatan Media

Pembuatan media NA dibuat dengan melarutkan bubuknya sebanyak 5 gr kedalam 250ml aquadest, lalu dipanaskan dan disterilisasi. Medium ini digunakan untuk peremajaan biakan bakteri. Pembuatan medium NB dilakukan dengan melarutkan bubuknya sebanyak 0,8 gr kedalam 100ml aquadest lalu disterilisasi. Medium ini digunakan untuk perbanyakan awal bakteri. Pembuatan medium MSM dilakukan dengan melarutkan: 1,2 g NH₄Cl; 1,6 g K₂HPO₄; 0,4 g KH₂PO₄; 0,1 g NaCl, 1 g KNO₃; 20 g MgSO₄·7H₂O; 10 g CaCl₂·2H₂O; 0,05 g FeCl₃, 1 mL larutan trace elemen. Kedalam 1 liter aquadest lalu disterilisasi. pH medium dijaga pada skala 7.

Perbanyakan Isolat Bakteri

Isolat bakteri ditumbuhkan di medium NA selama 24 jam. Isolat yang sudah diremajakan di medium NA dipindahkan kedalam medium NB, dishaker selama 24 jam dengan kecepatan 150 rpm pada suhu 37 °C selama 24 jam hingga mencapai fase eksponensial. Selanjutnya 6 ml kultur dipindahkan kedalam 100ml MSM, diinkubasi di dalam shaker inkubator selama 7 hari.

Setting Bioaugmentasi

Setting bioaugmentasi dilakukan dengan mencampurkan 5% minyak pelumas bekas dan 3% kompos kotoran

sapi kedalam 1000gr tanah humus. Aerasi dilakukan selama 2 hari. Bakteri yang telah diinkubasi didalam MSM selama 7 hari dicampurkan sebanyak 13,2% kedalam tanah yang telah tercemar minyak pelumas bekas, kemudian diinkubasi selama 7 hari.

Perhitungan pH

Perhitungan pH dilakukan dengan melarutkan 1 gr sampel kedalam 9 ml aquadest netral, kemudian divorteks. Larutan sampel disaring dan dilakukan pengukuran pH menggunakan pH meter. Perhitungan pH dilakukan setelah bakteri melakukan bioremediasi selama 7 hari di dalam tanah.

Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini dilakukan dengan memberikan frekuensi bioaugmentasi dan jenis bakteri yang berbeda-beda pada tanah tercemar minyak pelumas bekas. Jenis bakteri yang digunakan yaitu isolat bakteri *Bacillus* sp., *Alcaligenes* sp., dan konsorsium kedua jenis bakteri tersebut. Sedangkan frekuensi bioaugmentasi yang diberikan yaitu 1, 2, 3, 4, 5, dan 6 kali bioaugmentasi. Pada minggu ke-1 semua sampel (B1-B6) diberikan bioaugmentasi bakteri yang pertama. Pada minggu ke-2, semua sampel (kecuali B1) diberikan bioaugmentasi ke-2. Pada minggu ke-3, sampel B3-B6 (kecuali B1 dan B2) diberikan bioaugmentasi ke-3. Pada minggu ke-4, sampel B4-B6 diberikan bioaugmentasi bakteri yang ke-4. Pada minggu ke-5, sampel B5 dan B6 diberikan bioaugmentasi bakteri yang ke-5. Pada minggu ke-6, bioaugmentasi ke-6 hanya diberikan pada sampel B6 saja. Pengamatan pH tanah dilakukan sebanyak 6 kali, yaitu pada minggu ke-1, 2, 3, 4, 5, dan 6. Hasil pengamatan nilai pH disajikan dalam Tabel sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil pengamatan pengaruh bioaugmentasi bakteri terhadap nilai pH tanah.

Waktu (Minggu)	Jenis Bakteri	B1	B2	B3	B4	B5	B6
1	<i>Bacillus</i> sp.	6,72	6,65	6,95	6,84	7,02	6,78
	<i>Alcaligenes</i> sp.	6,68	6,80	6,76	6,71	6,77	6,78
	Konsorsium	6,83	6,84	6,51	6,85	6,80	6,55
2	<i>Bacillus</i> sp.	6,45	6,12	6,05	6,24	6,32	6,31
	<i>Alcaligenes</i> sp.	6,13	6,08	6,19	6,10	6,17	6,25
	Konsorsium	6,37	6,39	6,26	6,42	6,17	6,08
3	<i>Bacillus</i> sp.	5,70	5,65	5,63	5,55	5,65	5,55
	<i>Alcaligenes</i> sp.	5,70	5,72	5,63	5,63	5,55	5,58
	Konsorsium	5,55	5,50	5,55	5,57	5,56	5,54
4	<i>Bacillus</i> sp.	5,77	5,90	5,71	5,51	5,67	5,50
	<i>Alcaligenes</i> sp.	5,70	5,74	5,57	5,61	5,52	5,59
	Konsorsium	5,83	5,68	5,65	5,61	5,54	5,60
5	<i>Bacillus</i> sp.	5,58	5,57	5,61	5,56	5,60	5,58
	<i>Alcaligenes</i> sp.	5,64	5,62	5,50	5,50	5,60	5,37
	Konsorsium	5,59	5,57	5,52	5,62	5,53	5,32
6	<i>Bacillus</i> sp.	5,46	5,40	5,32	5,43	5,33	5,28
	<i>Alcaligenes</i> sp.	5,62	5,62	5,48	5,50	5,40	5,29
	Konsorsium	5,58	5,58	5,54	5,38	5,74	5,41

Tabel 2. Hasil ANOVA pengaruh bioaugmentasi terhadap nilai pH tanah pada minggu pertama

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F tabel 5%
Faktor A	2	0,06	0,03	1,93	3,55
Faktor B	5	0,10	0,02	1,21	2,77
Faktor AB	10	0,36	0,04	2,18	2,41
Galat	18	0,30	0,02		

Tabel 3. Hasil ANOVA pengaruh bioaugmentasi terhadap nilai pH tanah pada minggu ke- 2

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F tabel 5%
Faktor A	2	0,11	0,05	2,36	3,55
Faktor B	5	0,08	0,02	0,72	2,77
Faktor AB	10	0,35	0,04	1,56	2,41
Galat	18	0,41	0,02		

Tabel 4. Hasil ANOVA pengaruh bioaugmentasi terhadap nilai pH tanah pada minggu ke- 3

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F tabel 5%
Faktor A	2	0,06	0,03	2,90	3,55
Faktor B	5	0,03	0,01	0,69	2,77
Faktor AB	10	0,05	0,01	0,55	2,41
Galat	18	0,17	0,01		

Tabel 5. Hasil ANOVA pengaruh bioaugmentasi terhadap nilai pH tanah pada minggu ke- 4

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F tabel 5%
Faktor A	2	0,02	0,01	1,00	3,55
Faktor B	5	0,28	0,06	6,18*	2,77
Faktor AB	10	0,12	0,01	1,32	2,41
Galat	18	0,16	0,01		

Ket: *Berbeda nyata pada taraf 5%

Tabel 6. Hasil ANOVA pengaruh bioaugmentasi terhadap nilai pH tanah pada minggu ke- 5

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F tabel 5%
Faktor A	2	0,02	0,01	2,27	3,55
Faktor B	5	0,13	0,03	5,67*	2,77
Faktor AB	10	0,10	0,01	2,10	2,41
Galat	18	0,08	0,00		

Ket: *Berbeda nyata pada taraf 5%

Tabel 7. Hasil ANOVA pengaruh bioaugmentasi terhadap nilai pH tanah pada minggu ke- 6

Sumber Variasi	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F tabel 5%
Faktor A	2	0,17	0,09	9,44*	3,55
Faktor B	5	0,17	0,03	3,78*	2,77
Faktor AB	10	0,17	0,02	1,84	2,41
Galat	18	0,17	0,01		

Ket: *Berbeda nyata pada taraf 5%

Proses penguraian hidrokarbon oleh mikroba dimulai dengan terjadinya pelekatan mikroba pada globula minyak, yang dilanjutkan dengan proses pelarutan hidrokarbon oleh surfaktan yang diproduksi oleh mikroba tersebut. Hidrokarbon yang telah teremulsi ini selanjutnya diserap kedalam sel dan diuraikan melalui proses katabolisme. Untuk n-alkana, proses katabolisme ini diawali dengan proses hidroksilasi n-alkana yang menghasilkan alkohol primer, yang selanjutnya dioksidasi oleh enzim dehidrogenase dan menghasilkan asam lemak. Jika sistem oksidasi mikroba pengurai hidrokarbon dapat berjalan secara optimal, maka asam lemak yang terbentuk ini akan diurai sempurna menjadi energi, H₂O, dan CO₂ melalui proses beta-oksidasi (Godfrey dalam sinaga, 2013).

Aktivitas bakteri dalam mendegradasi hidrokarbon memiliki ketergantungan terhadap nilai pH karena memiliki efek yang nyata pada kecepatan enzim yang dikatalisis reaksi. Perubahan pH dapat mempengaruhi enzim dengan cara mengubah pengikatan substrat enzim. pH tanah mempengaruhi kelarutan fosfor, suatu nutrisi untuk mikroba, dan transportasi logam berbahaya di tanah. Kelarutan fosfor dimaksimalkan terjadi pada pH 6, 5 dan transportasi logam diminimalkan pada tingkat pH lebih besar dari 6. Selanjutnya, pH memiliki pengaruh besar pada kontaminan biotik reaksi di dalam tanah. Pada beberapa karakter spesifik tanah seperti yang tercemar minyak mentah, pH dapat menyebabkan bahan seperti logam di dalam tanah mengendap dan menghadirkan kontaminan yang berbahaya (Ajoku, G.\A.O, and Odula, M.K, 2013). Perubahan pH juga dapat menyebabkan kontaminan menjadi sangat teradsorpsi ke tanah, sehingga menghambat proses degradasi. Akibatnya, diperlukan adanya penyesuaian pH agar proses degradasi bekerja secara lebih optimum.

Menurut hasil penelitiannya, Aliyanta, dkk (2011) mengatakan bahwa perlakuan bioremediasi limbah minyak umumnya mengakibatkan terjadinya penurunan pH. Penurunan nilai pH tersebut diduga disebabkan oleh aktivitas konsorsium bakteri yang membentuk metabolit-metabolit asam. Biodegradasi alkana yang terdapat dalam minyak bumi akan membentuk alkohol dan selanjutnya menjadi asam lemak. Asam lemak hasil degradasi alkana akan dioksidasi lebih lanjut membentuk asam asetat dan asam propionat, sehingga dapat menurunkan nilai pH (Rosenberg *et al.* dalam Nugroho, 2006).

Berdasarkan hasil pengamatan, Tabel 1 menunjukkan rata-rata nilai pH tanah tercemar minyak pelumas bekas selama 6 minggu proses bioremediasi. Dari data yang ditampilkan pada Tabel 1 tersebut, terlihat bahwa perubahan nilai pH tanah tidak terlalu besar. Namun untuk melihat pengaruh frekuensi bioaugmentasi dan jenis bakteri hidrokarbonoklastik terhadap nilai pH tanah, maka dilakukan uji ANOVA taraf 5 %. Hasil uji ANOVA pada taraf 5% (Tabel 2-4) menunjukkan bahwa f hitung faktor A, B, AB lebih kecil daripada nilai f tabel 5. Hal ini menunjukkan bahwa frekuensi bakteri dan jenis bakteri tidak berpengaruh terhadap nilai pH tanah selama 3 minggu pertama proses bioremediasi menggunakan teknik bioaugmentasi.

Hasil uji ANOVA taraf 5% pada pengamatan minggu ke-4 dan minggu ke-5 menunjukkan bahwa nilai f hitung faktor B lebih besar daripada nilai f tabel 5%. Hal ini menunjukkan bahwa frekuensi bioaugmentasi bakteri hidrokarbonoklastik mulai mempengaruhi nilai pH tanah pada minggu ke-4 dan minggu ke-5. Hasil uji ANOVA taraf 5% pada pengamatan minggu ke-6 menunjukkan bahwa nilai f hitung faktor A dan faktor B lebih besar daripada nilai f tabel. Hal ini menjelaskan bahwa jenis bakteri dan frekuensi bioaugmentasi juga berpengaruh pada minggu ke-6. Dari hasil ANOVA selama 6 minggu tersebut, maka diketahui bahwa pH tanah tidak berubah selama 3 minggu pertama, namun pH tanah mulai sedikit menurun pada 3 minggu terakhir.

Dari data hasil penelitian ini, rata-rata nilai pH tanah setelah proses bioremediasi menggunakan teknik bioaugmentasi berkisar antara 5 – 7. Hasil ini sejalan dengan pendapat Dible (1979). Menurut Dible (1979), Nilai pH optimum yang dibutuhkan oleh mikroorganisme dalam mendegradasi hidrokarbon adalah sekitar 5,0- 7,8. Hal ini terjadi karena mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon cenderung tumbuh pada lingkungan netral. Berdasarkan pernyataan tersebut, maka nilai pH tanah setelah dilakukan bioaugmentasi selama 6 minggu masih tergolong aman untuk pertumbuhan bakteri hidrokarbonoklastik dalam proses bioremediasi. Hal ini didukung oleh dengan pendapat Chator dan Somerville dalam Nugroho (2006), yang mengatakan bahwa beberapa bakteri juga memiliki kemampuan untuk melakukan upaya homeostatis terhadap keasaman lingkungan selama masih dalam batas toleransi adaptasinya. Caranya dengan melakukan pertukaran kation k⁺ dari dalam sel dan menukarnya dengan H⁺ yang banyak terdapat di lingkungannya. Akibatnya keasaman lingkungan dapat dikurangi.

Meskipun pH dari hasil bioremediasi menggunakan 6 kali teknik bioaugmentasi dalam penelitian ini masih tergolong aman, namun penyesuaian pH selama proses bioremediasi tetap harus diperhatikan dengan baik. Menurut Ajoku, G.A.O, and Odula, M.K (2013), salah satu cara penyesuaian pH untuk mengoptimalkan populasi mikroba dalam proses biodegradasi adalah dengan menambahkan zat aditif. Untuk menaikkan nilai pH, dapat dilakukan dengan

menggunakan senyawa seperti kalsium oksida (kapur), Kalsium hidroksida, Kalsium Karbonat, Magnesium Karbonat, Kalium Hidroksida, dan Terak Kalsium Silikat.

Kesimpulan

Bioremediasi dengan teknik bioaugmentasi isolat bakteri *Bacillus* sp. dan *Alcaligenes* sp. mempengaruhi nilai pH pada tanah tercemar minyak pelumas bekas. Hal ini terjadi akibat adanya aktivitas metabolisme bakteri sebagai bukti bahwa bioremediasi pada tanah tercemar minyak pelumas bekas telah terjadi.

Ucapan Terimakasih

Puji dan syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunian-Nya, sehingga peneliti dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan artikel ini. Terimakasih kepada Ibu Dr. Yuni Ahda, M.Si. yang sudah memberikan ide dan membimbing dalam penelitian dan penulisan artikel ini. Terimakasih kepada semua pihak yang telah ikut berpartisipasi dan memberikan bantuan baik secara moril ataupun materil demi kelancaran penelitian dan penulisan artikel.

Daftar Pustaka

- Ajoku, G. A. O. dan Odula, M. K. 2013. Kinetic Model of pH Effect on Bioremediation of Crude Petroleum Contaminated Soil. 1. Model Development. *American Journal of Chemical Engineering*. 1(1): 6-1.
- Ali, M. 2012. *Tinjauan Proses Bioremediasi Melalui Pengujian Tanah Tercemar Minyak*. Surabaya: UPN Press.
- Aliyanta, B., Sumarlin, L. O., dan Mujab, A. S. 2011. Penggunaan Biokompos dalam Bioremediasi Lahan Tercemar Limbah Minyak Bumi. 2 (3).
- Atlas, R.M. and Bartha, R. 1992. *Microbial Ecology*. California: Benjamin Cummings Science.
- Effendi, H. 2003. *Telaah Kualitas Air Bagi Pengelolaan Sumber Daya dan Lingkungan Perairan*. Jakarta: Kanisius.
- Komarawidjaja, W. 2009. Karakteristik dan Pertumbuhan Konsorsium Mikroba Lokal dalam Media Mengandung Minyak Bumi. *Jurnal Teknik Lingkungan*. 1(11).
- Nugroho, A. 2006. Biodegradasi 'Sludge' Minyak Bumi dalam Skala Mikrokosmos. *Makara Teknologi*. 10.(2): 82-89.
- Nugroho, A. 2009. Produksi Gas Hasil Biodegradasi Minyak Bumi: Kajian Awal Aplikasinya dalam Microbial Enhance Oil Recovery (MEOR): *Makara Sains*. 13(2): 111-116.
- Sinaga, A.P. 2013. Perombakan Hidrokarbon dalam Tanah Terkontaminasi Minyak Berat, Minyak Ringan, dan Oli Bekas oleh *Bacillus* sp. *Skripsi*. Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Sopiah, N. 2011. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon yang Berasal dari Tanah Tercemar Minyak Bumi. *Jurnal Teknik Lingkungan*. 12(3).
- Zam, S. I. 2011. Bioremediasi Tanah yang Tercemar Limbah Pengilangan Minyak Bumi Secara In Vitro pada Konsentrasi pH Berbeda. *Jurnal Agroekoteknologi*. 1(2).