

BAB II

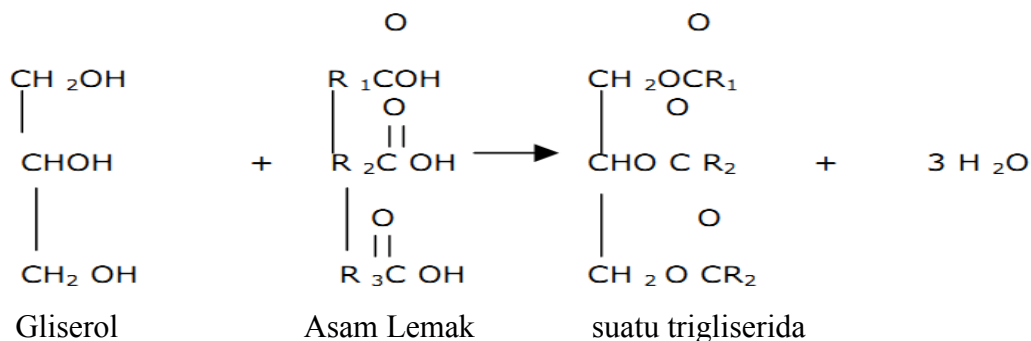
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan tentang Minyak Goreng

2.1.1 Definisi minyak goreng

Menurut Widayat (2009) minyak goreng adalah salah satu minyak yang sumbernya berasal dari tumbuhan (minyak nabati) yang berbentuk cair pada suhu kamar. Minyak berbentuk cair pada suhu kamar karena rendahnya kandungan asam lemak jenuh dan tingginya kandungan asam lemak tak jenuh sehingga titik leburnya rendah (Winarno, 1992). Minyak goreng biasanya diproduksi dari kelapa sawit, kelapa, biji-bijian, kacang-kacangan, kedelai, atau jagung.

Minyak pada umumnya adalah trigliserida yaitu senyawa triester yang terbentuk dari triol gliserol dan asam karboksilat yang mempunyai tiga rantai panjang (Fessenden dan Fessenden, 1997). Hidrolisis asam karboksilat dari suatu minyak menghasilkan asam lemak yang memiliki rantai hidrokarbon panjang dan tak bercabang (Fessenden, 1982). Struktur trigliserida ditunjukkan oleh gambar 2.1.



Gambar 2.1 Struktur trigliserida (Fessenden, 1982)

2.1.2 Komponen penyusun minyak goreng

Minyak pada umumnya merupakan trigliserida yang tidak homogen dengan beberapa pengecualian. Oleh sebab itu kebanyakan trigliserida mengandung dua atau tiga asam lemak yang berbeda, misalnya satu asam palmitat, satu asam stearat, dan satu asam oleat sebagai esternya (Fessenden dan Fessenden, 1997).

Rantai hidrokarbon dari suatu asam lemak dapat bersifat jenuh atau dapat pula mengandung ikatan – ikatan rangkap. Asam lemak yang dapat tersebar paling merata di alam adalah asam oleat yang mengandung satu ikatan rangkap. Asam lemak dengan lebih dari satu ikatan rangkap juga ditemui pada minyak nabati (Fessenden, 1986). Trigliserida minyak nabati mengandung kira – kira 20% asam lemak jenuh dan 80% asam lemak tidak jenuh (Fessenden dan Fessenden, 1997).

Trigliserida pada minyak goreng merupakan suatu senyawa hidrokarbon alifatis. Hidrokarbon alifatis adalah suatu senyawa hidrokarbon yang terdiri atas rantai karbon (C) terbuka. Hidrokarbon alifatis dibagi menjadi dua yaitu alifatik jenuh (alkana) dan alifatik tidak jenuh (alkena dan alkuna) (Ynez, 2008 *dalam* Zulfa, 2010).

2.1.3 Definisi dan mekanisme pembentukan minyak jelantah

Minyak goreng biasanya digunakan selama 3-4 kali penggorengan dan setelah itu tidak dimanfaatkan lagi dan sering disebut dengan jelantah (Rifqi, dkk., 2012). Jelantah adalah minyak goreng yang sudah rusak akibat proses oksidasi, polimerisasi, dan hidrolisis selama masa penggorengan. Ciri-ciri dari jelantah

adalah kenampakannya menjadi coklat atau kehitaman dan rasanya menjadi kurang enak atau biasanya berbau tengik (Ketaren, 1986).

Salah satu ciri dari jelantah adalah munculnya bau tengik. Ketengikan ini disebabkan oleh fotooksidasi radikal asam lemak tak jenuh. Fotooksidasi dipengaruhi oleh cahaya, panas, peroksida lemak atau pembentukan senyawa-senyawa seperti keton dan aldehida, logam berat (Cu, Fe, Co, dan Mn), logam porfirin (hematin, hemoglobin, dan klorofil) dan enzim-enzim lipoksidase (Winarno, 1992).

Selain fotooksidasi, jelantah terbentuk melalui proses hidrolisis. Hidrolisis terjadi karena adanya air sehingga lemak terhidrolisis menjadi gliserol dan asam lemak. Minyak yang telah terhidrolisis menyebabkan bahan-bahan yang digoreng menjadi cokelat dan lebih banyak menyerap minyak (Sari, 2007).

2.1.4 Akibat dari pembuangan limbah minyak goreng (jelantah)

Limbah minyak goreng tergolong limbah organik yang apabila dibuang langsung ke lingkungan akan meningkatkan keasaman lingkungan, menimbulkan bau yang tidak sedap dan kerusakan terhadap lingkungan (Setyawan, 2005). Polutan yang berasal dari jelantah dapat menyebabkan pori-pori tanah tertutup sehingga sirkulasi udara yang ada di dalam tanah menjadi terhambat. Tertutupnya pori-pori tanah ini akan berakibat pada terhambatnya pertumbuhan tanaman dan menurunnya kesuburan tanah. Selain itu, polutan dari jelantah dapat bersifat karsinogenik dan toksik terhadap makhluk hidup di tanah (Wyuliandari, 2008).

2.1.5 Akibat dari proses pembersihan minyak dengan penyabunan

Sabun adalah hasil dari suatu saponifikasi (pembuatan sabun) suatu trigliserida yang menghasilkan suatu garam dari asam lemak ke rantai panjang. Suatu molekul sabun mengandung suatu rantai hidrokarbon panjang yang hidrofobik dan satu rantai ujung ion yang hidrofilik. Sabun digunakan untuk mengemulsi minyak sehingga dapat dibuang dengan pembilasan. Hal ini karena sabun memiliki rantai hidrokarbon yang dapat larut dalam minyak dan memiliki ujung anion yang tertarik oleh air membentuk reaksi tolak menolak sabun – minyak sehingga minyak dapat tetap tersuspensi (Fessenden, 1982). Komponen – komponen utama dari sabun adalah bagian yang sulit terdegradasi (Buchari, dkk., 2001).

Detergen adalah pengemulsi minyak sama halnya seperti sabun. Detergen baik digunakan untuk pencuci karena adanya surfaktan. Surfaktan jenis ABS (*alkil benzyl sulfonat*) degradasinya oleh mikroba sangat lambat karena memiliki struktur rantai cabang, namun saat ini surfaktan yang sering digunakan adalah jenis LAS (*linier alkil sulfonat*) yang memungkinkan terdegradasi oleh mikroba (Buchari, dkk., 2001).

2.2 Tinjauan tentang Mikroba

2.2.1 Mikroba pendegradasi hidrokarbon

Mikroba pendegradasi hidrokarbon adalah mikroba yang memiliki kemampuan fisiologi dan metabolik untuk mendegradasi senyawa hidrokarbon sehingga dapat hidup di lingkungan hidrokarbon (Noegroho, 1999). Menurut

Atlas dan Bartha (1985) mikroba yang memiliki kemampuan dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon untuk keperluan metabolisme dan perkembangbiakannya disebut sebagai mikroba hidrokarbonoklastik.

Beberapa genus bakteri hidrokarbonoklastik diantaranya adalah *Acromobacter*, *Actinomycetes*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Methylobacterium*, *Methylococcus*, *Methylocystis*, *Methylomonas*, *Micromonospora*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Methanobacterium*, *Microspora*, *Desulfovibrio*, dan *Spirillum*. Genus yeast atau khamir yang berpotensi dalam mendegradasi hidrokarbon adalah *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Hansenula*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Torulopsis*. Sedangkan dari kelompok kapang hidrokarbonoklastik genusnya antara lain *Acremonium*, *Aspergillus*, *Cephalosporium*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Paecilomyces*, dan *Penicillium* (Nugroho, 2006).

Mikroba mendegradasi hidrokarbon dengan jalan mengubahnya menjadi senyawa yang lebih sederhana sehingga mikroba dapat memenuhi kebutuhannya akan sumber karbon dan energi (Manahan, 1992). Menurut Goswami dan Singh (1990) cara transpor hidrokarbon ke dalam sel mikroba melalui tiga cara yaitu dengan interaksi sel dengan hidrokarbon terlarut dalam fase air, kontak langsung sel dengan permukaan tetesan hidrokarbon yang lebih besar daripada sel mikroba melalui proses difusi atau transport aktif, dan interaksi sel dengan tetesan hidrokarbon yang teremulsi atau tersolubilisasi oleh bakteri.

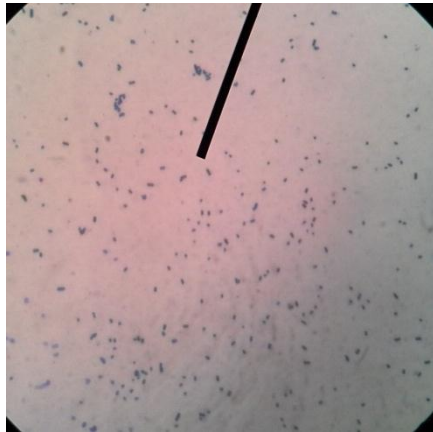
Mikroba pendegradasi hidrokarbon dapat digunakan untuk penanganan limbah minyak dan untuk bioremediasi. Bakteri pendegradasi hidrokarbon tersebar secara luas di laut, perairan tawar, tanah, dan udara sebagai tempat hidupnya (Sugoro, 2002).

Pertumbuhan mikroba di alam dapat dilihat dalam kurva pertumbuhan mikroba. Fase pertumbuhan mikroba terdiri dari 4 fase. Pertama, fase adaptasi atau fase lag yaitu masa penyesuaian bagi mikroba dan tidak terjadi penambahan jumlah sel. Kedua, fase eksponensial atau fase log, yaitu fase pertumbuhan yang memiliki laju pertumbuhan spesifik, yaitu laju pembelahan sel yang tetap. Ketiga, fase stasioner, yaitu fase saat jumlah sel mencapai maksimal, laju pembiakan berkurang dan beberapa sel mati yang ditunjukkan oleh menyusutnya nutrient dalam media. Selanjutnya adalah fase death atau kematian, yaitu fase tidak ada lagi pembelahan sel mikroba, dan seluruh mikroba mengalami kematian (Handayani, dkk., 2006).

2.2.2 Bakteri *Micrococcus* sp. L II 61

Klasifikasi bakteri *Micrococcus* sp. L II 61 menurut Garrity, dkk. (2004) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Actinobacteria
Ordo	: Actinomycetes
Famili	: Micrococeaceae
Genus	: <i>Micrococcus</i>
Spesies	: <i>Micrococcus</i> sp. L II 61



Gambar 2.2 Sel bakteri *Micrococcus* sp. pada mikroskop cahaya perbesaran 1000 x (koleksi pribadi)

Menurut Breed, dkk. (1957) *Micrococcus* merupakan bakteri yang dapat ditemukan dalam berbagai lingkungan seperti debu, air, dan tanah. *Micrococcus* dapat mendegradasi lilin dan hidrokarbon serta dapat hidup pada lingkungan yang sedikit air, konsentrasi garam tinggi dan kebanyakan adalah bakteri mesofil.

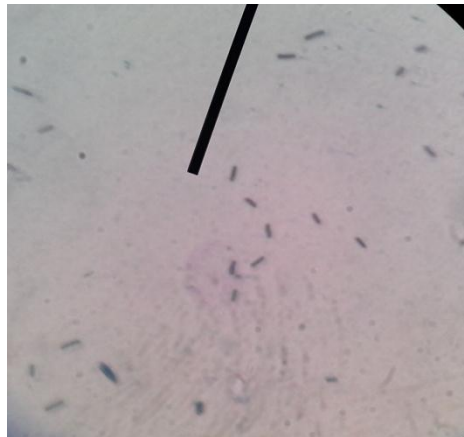
Micrococcus sp. L II 61 dapat menghasilkan biosurfaktan pada media molase dan biosurfaktannya dapat melarutkan *oil sludge*. *Micrococcus* sp. L II 61 dapat menghasilkan enzim lipase saat ditumbuhkan pada substrat minyak goreng dan minyak olive (Ni'matuzahroh, dkk., 2013).

Bakteri *Micrococcus* sp. L II 61 menunjukkan hasil positif pada uji katalase, motilitas, dan fermentasi glukosa sementara hasil negatif diperoleh saat bakteri ini diuji dengan uji fermentasi manitol, uji Voges-Proskauer (VP), dan urease. Bakteri ini berbentuk kokus dengan diameter antara 0,5-2,0 μm , Gram positif, berpasangan, tetrad atau kelompok kecil, aerob dan tidak berspora, memiliki pigmen berwarna merah, bisa tumbuh baik pada medium NA (*nutrient agar*) pada suhu 30°C dibawah kondisi aerob (Fatimah, dkk., 2011).

2.2.3 Bakteri *Bacillus subtilis* 3KP

Klasifikasi bakteri *Bacillus subtilis* 3KP menurut Madigan (2005) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
Filum : Firmicutes
Kelas : Bacilli
Ordo : Bacillales
Famili : Bacillaceae
Genus : *Bacillus*
Species : *Bacillus subtilis* 3KP



Gambar 2.3 Sel bakteri *Bacillus subtilis* 3KP pada mikroskop cahaya perbesaran 1000 x (koleksi pribadi)

Bakteri *Bacillus subtilis* 3KP merupakan bakteri Gram positif, berbentuk batang, rantai maupun tunggal, dapat ditemukan pada tanah, air, udara, dan materi tumbuhan yang terdekomposisi. *Bacillus subtilis* 3KP merupakan bakteri hasil isolasi dari perairan “Kali Donan” Cilacap Jawa Tengah. Bakteri tersebut tergolong potensial menghasilkan biosurfaktan pada berbagai jenis substrat karbohidrat (Ni'matuzahroh, dkk., 2002). *Bacillus subtilis* 3KP merupakan bakteri

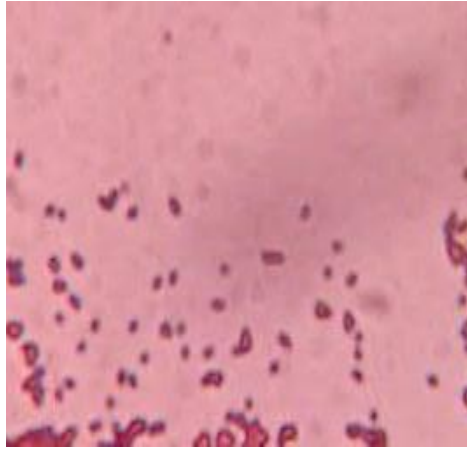
yang memiliki panjang sel tidak lebih dari 3 μm , berbentuk batang dengan membentuk sel yang berantai, memiliki endospora terminal atau subterminal, serta bersifat aerob dan anaerob fakultatif.

Bacillus subtilis 3KP menunjukkan hasil positif pada uji motilitas, sementara hasil negatif diperoleh saat bakteri ini diuji dengan uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*), katalase dan oksidase. Pada uji *Methyl-Red* (MR), bakteri ini menunjukkan hasil negatif sebagaimana juga pada uji Voges-Proskauer (VP), urease, dan sitrat (Ni'matuzahroh, dkk., 2003). Bakteri ini mempunyai kemampuan dalam mendegradasi minyak bumi, dimana bakteri ini menggunakan minyak bumi sebagai satu-satunya sumber karbon untuk menghasilkan energi dan pertumbuhannya. Pada konsentrasi yang rendah, bakteri ini dapat merombak hidrokarbon minyak bumi dengan cepat (Pratiwi, 2012).

2.2.4 Bakteri *Acinetobacter* sp. P2(1)

Klasifikasi bakteri *Acinetobacter* sp. P2(1) menurut Garrity, dkk. (2004) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Pseudomonadales
Famili	: Pseudomonadaceae
Genus	: <i>Acinetobacter</i>
Spesies	: <i>Acinetobacter</i> sp. P2(1)



Gambar 2.4 Morfologi *Acinetobacter* sp. P2(1) pada mikroskop cahaya perbesaran 1000 x (Ni'matuzahroh dkk., 2009)

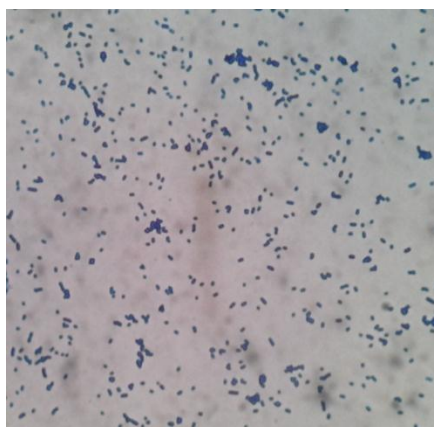
Bakteri *Acinetobacter* sp. P2(1) dapat ditemukan pada lingkungan yang lembab dan kondisi yang mengandung banyak mineral seperti komponen aromatik. *Acinetobacter* sp. memiliki biosurfaktan jenis lipopolisakarida (Rosenberg, dkk., 1979). Bakteri *Acinetobacter* memiliki kemampuan untuk menggunakan rantai hidrokarbon sebagai sumber nutrisi, sehingga mampu meremediasi tanah yang tercemar oleh minyak (Pratiwi, 2012)

Acinetobacter sp. P2(1) merupakan Gram negatif. Bakteri ini berbentuk batang bulat dengan ukuran 0,5 – 1,0 μm , kemudian menjadi berbentuk bola ketika dalam fase stasioner dalam fase pertumbuhannya, aerobik obligat untuk membantu dalam metabolisme dengan oksigen sebagai reseptor terminal elektron, tidak membentuk spora, biasanya menggunakan nitrat dan oksidasi negatif. Tidak mempunyai flagel sehingga non motil (Breed, dkk., 1957).

2.2.5 Bakteri *Pseudomonas putida* T1-8

Klasifikasi bakteri *Pseudomonas putida* T1(8) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Zymobacter
Ordo	: Pseudomonadales
Famili	: Pseudomonadaceae
Genus	: <i>Pseudomonas</i>
Spesies	: <i>Pseudomonas putida</i> T1(8) (Breed, dkk., 1957)



Gambar 2.5 Sel bakteri *Pseudomonas putida* T1(8) pada mikroskop cahaya perbesaran 1000 x (koleksi pribadi)

Bakteri *Pseudomonas putida* dapat ditemukan pada lingkungan yang lembab dan kondisi yang ekstrim seperti pada polutan berbahaya dan hidrokarbon aromatik (*toluen, benzena, etilbenzena*). *Pseudomonas putida* T1(8) merupakan Gram negatif. Bakteri ini berbentuk batang lonjong dengan ukuran 0,5 – 1,0 μm , berwarna fluoresent, aerobik, tidak membentuk spora, dan oksidasi positif. Mempunyai satu atau lebih flagel yang digunakan sebagai motilitas.

2.2.6 Interaksi antarmikroba

Kehidupan timbal balik setiap mikroorganisme yang membentuk kehidupan bersama menyebabkan diperlukannya suatu konsorsium dalam mendegradasi suatu hidrokarbon. Kehidupan bersama antarmikroorganisme dinamakan simbiosis. Hubungan yang saling menguntungkan antarpopulasi disebut sebagai simbiosis mutualisme. Hubungan populasi mikroorganisme yang saling menguntungkan dan populasi satu tidak dapat memproduksi bahan tertentu tanpa populasi lainnya disebut sebagai sinergisme atau protokooperasi. Sedangkan jika satu populasi memperoleh keuntungan dan populasi lain mendapat kerugian disebut komensalisme. Namun jika hubungan terjadi karena penggunaan nutrisi yang sama dan menyebabkan tereliminasi populasi yang lemah maka disebut sebagai reaksi kompetisi (Schlegel dan Schmidt, 1994).

Menurut Nugroho (2006) dalam melakukan proses biodegradasi senyawa hidrokarbon secara sempurna mikroba tidak mungkin melakukannya sendiri, namun selalu dilakukan oleh sekumpulan mikroba yang saling berinteraksi secara sinergik dalam bentuk konsorsium. Suatu konsorsium terdiri atas campuran populasi mikroba yang memiliki hubungan kooperatif dan mutualistik sehingga saling mendukung satu sama lain dalam proses biodegradasi. Penggunaan mikroorganisme indigen saja dalam proses bioremediasi belum maksimal sehingga diperlukan inokulasi mikroorganisme eksogen yang merupakan konsorsium beberapa bakteri potensial pendegradasi pencemar (Udiharto dan Sudaryono, 1999).

2.3 Tinjauan tentang Biodegradasi dan Bioremediasi

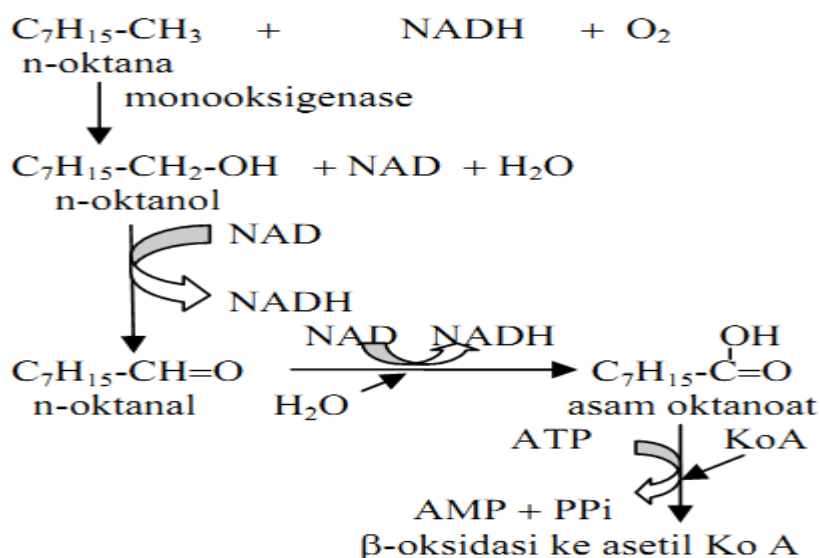
2.3.1 Biodegradasi dan Bioremediasi

Menurut Nugroho (2006) pencemaran oleh minyak meskipun dengan konsentrasi hidrokarbon yang rendah sangat mempengaruhi bau dan rasa air tanah. Lingkungan sebenarnya memiliki kemampuan dalam mendegradasi senyawa-senyawa pencemar yang masuk ke lingkungan. Namun beban pencemar seringkali lebih besar dibandingkan kecepatan degradasi zat pencemar. Biodegradasi hidrokarbon adalah proses penurunan kadar pencemar hidrokarbon oleh mikroba dengan cara memotong rantai hidrokarbon menjadi lebih pendek dengan melibatkan berbagai enzim. Sistem enzim ini dikode oleh suatu kromosom atau plasmid, tergantung pada jenis bakterinya (Harayama, 1995). Menurut Baker dan Herson (1994) biodegradasi hidrokarbon di alam terutama dilakukan oleh bakteri dan fungi. Beberapa golongan mikroba dapat mendegradasi hidrokarbon melalui jalur oksidasi yang mengubah senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana. Bioremediasi merupakan suatu proses rehabilitasi lingkungan tercemar minyak yang memanfaatkan aktivitas mikroorganisme untuk menguraikan minyak menjadi senyawa yang lebih sederhana dan tidak berbahaya (Leahy and Colwell, 1990).

Dua pendekatan yang digunakan dalam proses bioremediasi adalah bioaugmentasi dan biostimulasi. Bioaugmentasi adalah penambahan mikroorganisme pengurai untuk melengkapi mikroorganisme yang sudah ada. Biostimulasi adalah proses perangsangan pertumbuhan mikroba asli pengurai

hidrokarbon dengan melakukan penambahan nutrien pada habitatnya (Venosa dan Zhu, 2003). Dari segi biaya dan kelestarian lingkungan, bioremediasi lebih murah dan berwawasan lingkungan bila dibandingkan dengan pemulihan secara fisika dan kimia (Gritter, dkk., 1991).

Trigliserida pada minyak goreng merupakan suatu senyawa hidrokarbon alifatik (Ynez, 2008 *dalam* Zulfa, 2010). Menurut Atlas dan Bartha *dalam* Udiharto (1996) degradasi senyawa alifatik seperti n-alkana terutama melalui oksidasi pada gugus metil terminal membentuk alkohol primer dengan bantuan enzim oksigenase. Alkohol akan dioksidasi lebih lanjut menjadi aldehid, selanjutnya asam organik ini akan menghasilkan asam lemak dan asetil Ko-A. Senyawa antara asetil Ko-A akan masuk ke dalam siklus Krebs, rantai karbon akan berkurang dari C_n menjadi C_{n-2} yang terus berlanjut sampai molekul hidrokarbon teroksidasi. Reaksi lengkapnya disajikan pada gambar 2.6 dibawah ini,



Gambar 2.6 Reaksi degradasi hidrokarbon alifatik (Atlas dan Bartha, *dalam* Udiharto, 2006).

2.3.2 Faktor – faktor yang mempengaruhi biodegradasi

Menurut Gordon (1994) faktor – faktor yang mempengaruhi kecepatan bioremediasi adalah nutrisi, mikroba dan faktor lingkungan. Sedangkan menurut Mujab (2011) faktor – faktor yang mempengaruhi kecepatan bioremediasi minyak antara lain:

1. Jenis dan Jumlah Mikroorganisme Hidrokarbonoklastik

Setiap bakteri memiliki kemampuan degradasi yang berbeda terhadap hidrokarbon. Dalam proses degradasi minyak, jenis dan jumlah mikroorganisme mempengaruhi proses biodegradasi. Interaksi antarpopulasi bakteri akan mempercepat terjadinya proses biodegradasi minyak (Mujab, 2011). Menurut USEPA (1998) minyak di alam diuraikan oleh sejumlah mikroba yang secara sinergis dan saling tergantung satu sama lain.

2. Nutrisi

Minyak merupakan sumber nutrisi dan sumber karbon yang sesuai untuk pertumbuhan mikroba, tetapi memiliki defisiensi unsur nitrogen dan fosfor, sehingga ketersediaan nitrogen dan fosfor ini akan menjadi faktor pembatas degradasi hidrokarbon oleh mikroba (Mujab, 2011).

3. Kadar Oksigen

Keberadaan oksigen adalah faktor terpenting dalam biodegradasi hidrokarbon (Nugroho, 2006). Menurut Santosa (1999) degradasi akan terjadi pada laju tertinggi jika aerasi dimaksimalkan.

4. Lama Waktu Inkubasi

Proses bioremediasi memerlukan waktu untuk mendapatkan degradasi yang sempurna. Dalam melakukan pembelahan diri, mikroba memerlukan waktu untuk menyesuaikan dan menggunakan senyawa yang ada pada lingkungannya (Nugroho, *dalam* Hadi, 2011).

5. pH Tanah

Tingkat keasaman (pH) merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi laju pertumbuhan mikroba. Tingkat keasaman (pH) dapat berubah selama pertumbuhan mikroba. Mikroorganisme pada umumnya tumbuh dengan baik pada pH antara 6,0 – 8,0. Sebagian besar bakteri pendegradasi hidrokarbon dapat tumbuh dengan baik pada kisaran pH netral (6,5 – 7,5) (Anonim, *dalam* Kusumaningati, 2012).

6. Kandungan Air

Air diperlukan oleh mikroba karena air merupakan penyusun sitoplasma sel. Selain itu, air juga berfungsi untuk transpor masuk dan keluar sel (Atlas dan Bartha, 1985). Air bukan merupakan faktor pembatas dalam proses biodegradasi, tetapi merupakan faktor yang harus dikontrol. Kelembaban tanah ideal yang diperlukan adalah 20 – 80%. Kelembaban berkisar antara 50-80% sebagai kelembaban yang optimal untuk keberlangsungan aktivitas mikroba (Santosa, 1999). Kandungan air sangat penting untuk aktivitas metabolik mikroba, karena mikroba akan hidup aktif di fase minyak dan air (Udiharto, 1996).

7. Konsentrasi Hidrokarbon

Konsentrasi hidrokarbon mempengaruhi kelarutan minyak yang akan mempengaruhi tingkat biodegradasi. Konsentrasi minyak yang rendah akan menyebabkan kelarutannya dalam air lebih tinggi sehingga memudahkan mikroba untuk menggunakannya (Atlas dan Bartha, 1992).

8. Komposisi Kimia Minyak

Tingkatan biodegradasi setiap hidrokarbon berbeda-beda. Urutan degradasi yang terjadi adalah n-alkana, isoalkana dan alkil benzene, alkana bercabang, sikloalkana, dan polisiklik.

9. Salinitas

Kebanyakan bakteri hidrokarbonoklastik pendegradasi minyak hanya dapat tumbuh pada salinitas rendah (Mujab, 2011).

10. Temperatur

Suhu optimum untuk proses biodegradasi adalah antara 30-40⁰C (Huddleston dan Creswell, 1976).

11. Tekstur Tanah

Tekstur tanah mempengaruhi permeabilitas, kelembaban, dan kepadatan dari tanah.

2.4 Tinjauan tentang *Bulking Agent*

2.4.1 Definisi *Bulking Agent*

Bulking agent adalah bahan tambahan yang ditambahkan dengan cara menggiling atau mencampurkan dengan material kompos sehingga membentuk struktur, porositas, dan tekstur yang mempengaruhi aerasi selama proses bioremediasi. Fungsi bulking agent adalah menyediakan pori udara diantara partikel, meningkatkan ukuran ruang pori, dan memudahkan pergerakan udara melewati campuran bahan (Rynk, 1992).

Bulking agent adalah bahan yang ditambahkan dalam proses bioremediasi yang dapat memperbaiki permeabilitas, *water holding capacity*, dan meningkatkan porositas tanah sehingga memperbaiki sistem aerasi di dalam tanah sehingga laju biodegradasi meningkat (Budiharjo, 2007). *Bulking agent* berfungsi sebagai pengatur porositas, kelembaban, dan sumber nutrisi. Mikroba sangat bergantung pada nutrisi untuk bertahan hidup. Salah satu faktor yang menentukan mampu atau tidaknya mikroba bertahan hidup adalah kecukupan nutriennya (Gordon, 1994).

2.4.2 Serbuk gergaji sebagai *bulking agent*

Jenis – jenis dari *bulking agent* antara lain adalah sekam padi, serbuk gergaji, potongan rumput, tandan kelapa sawit dan batang padi (Budiharjo, 2007 dan Nugroho, 2006). Berbagai *bulking agent* tersebut merupakan limbah pertanian dan industri yang belum dimanfaatkan secara optimal.

Serbuk gergaji merupakan serutan kayu hasil limbah industri yang merupakan bahan organik yang mudah diurai, memiliki rasio C/N 200 – 500 dan

memiliki kadar air 30% (Budiharjo, 2007). Menurut Supriyanto (2001), serbuk gergaji yang memiliki kandungan lignin antara 65 – 70%. Kemampuan menyerap air adalah 8 – 9 kali berat kering yang dimilikinya. Serbuk gergaji banyak digunakan dalam industri kayu namun limbahnya belum banyak dimanfaatkan, sehingga baik digunakan sebagai *bulking agent*.

Serbuk gergaji dapat dihasilkan dari pohon kelapa, pohon jati, pohon meranti, pohon randu dan lain – lain. Serbuk gergaji dari batang pohon kelapa memiliki komposisi lignin dan selulosa yang membuat serabut menjadi kuat namun tidak elastis (Supriyanto, 2011).

Tabel 2.1 Karakteristik serbuk gergaji batang pohon kelapa

Karakteristik	Nilai
pH	5,0 – 6,8
Selulosa	20- 30 %
Lignin	65 – 70%
Kapasitas Mengikat Air	8 – 9 kali berat keringnya
Porositas	36%
Densitas	1.01 g/cm ³

Sumber : Supriyanto (2011)

2.5 Tinjauan tentang Tanah

2.5.1 Karakteristik tanah

Tanah merupakan penutup terluar bumi yang terdiri atas lapisan – lapisan bahan yang tersusun longgar berupa bahan organik dan anorganik yang susunannya berbeda–beda tahapannya (Rao, 1994). Tanah mempunyai

kemampuan atau reaksi tanah lainnya atau menetralkan efek polutan, melalui reaksi kimia dan biokimia (Buchari, dkk., 2001).

Komponen-komponen tanah dapat dipisahkan menjadi tiga fase, yaitu fase padat yang terdiri atas bahan mineral dan bahan organik, fase padat yang terdiri atas lengas tanah dan air tanah, dan fase gas yang terdiri atas udara tanah. Komponen mineral tanah menentukan komposisi tanah berdasarkan volumenya. Komposisi mineral tanah antara lain adalah pasir/debu, lempung, dan bahan amorf (Susanto, 2005).

Sifat fisik tanah yang terpenting adalah tekstur dan struktur. Tekstur tanah menunjukkan ukuran suatu partikel tanah dan proporsi ukuran partikel tersebut terhadap ukuran partikel lainnya. Tekstur tanah mempengaruhi jumlah air yang dapat ditahan oleh tanah, dan laju perlokasi air di dalam tanah. Tanah yang memiliki tekstur yang baik untuk tumbuhan adalah terdiri atas *sand* dan *slit* dalam perbandingan yang sama dan mengandung sedikit *clay* yang disebut sebagai *loam* yang memiliki porositas yang cukup sehingga sirkulasi udara dan drainase air berjalan baik yang dapat mendukung pertumbuhan tanaman (Soegianto, 2010)

Tabel 2.2 Sifat fisik dan tekstur tanah

Tekstur	Ukuran (mm)	Kapasitas menampung nutrien	Kapasitas infiltrasi air	Kapasitas menampung air	Aerasi
Clay	<0,002	Baik	kurang	Baik	Kurang
Slit	0,002 – 0,02	Sedang	Sedang	Sedang	Sedang
Sand	0,02 – 2	Kurang	Baik	Kurang	Baik
Loam	-	Sedang	Sedang	Sedang	Sedang

Sumber : Soegianto, 2010

2.5.2 Mikroorganisme tanah

Tanah umumnya mengandung sejumlah besar mikroba, mulai dari bakteri, alga, fungi, protozoa, dan actinomycetes (Soegianto, 2010). Dari sejumlah populasi mikroba tanah, 20% nya mampu mendegradasi hidrokarbon (Nugroho, 2006). Mikroorganisme mempengaruhi pembentukan tanah (Soepardi, 1983). Mikroorganisme mengikat unsur – unsur udara ke dalam tanah, baik dilakukan sendiri maupun dalam bentuk simbiosis dengan tanaman (Hardjowigono, 2002). Kehidupan mikroorganisme di dalam tanah dipengaruhi oleh jumlah dan macam zat nutrisi, kelembaban, oksigen, suhu, dan pH (Muslimin, 1995).

Bakteri merupakan kelompok mikroorganisme dalam tanah yang paling dominan dan mungkin separuh dari biomassa mikroba dalam tanah. Bakteri terdapat dalam segala macam tipe tanah tetapi populasinya menurun dengan bertambahnya kedalaman tanah (Rao, 1994). Jumlah mikroba di permukaan tanah (15 cm dari permukaan tanah) dijelaskan dalam tabel dibawah ini.

Tabel 2.3 Jumlah mikroba 15 cm dari permukaan tanah

Mikroba	CFU/ g berat kering	Biomassa g/m³
Bakteri	10 ⁸	160
Actinomycetes	10 ⁵ – 10 ⁶	160
Fungi	10 ⁵	200
Ganggang / alga	10 ⁴ – 10 ⁵	32
Protozoa	10 ⁴	38

Sumber : Muslimin (1995)

2.6 Variabel Degradasi

Kemampuan mikroba mendegradasi hidrokarbon dapat diketahui dengan mengamati beberapa variabel, antara lain: hilangnya substrat, pertumbuhan

mikroba pada substrat dan terbentuknya produk akhir (Rosernberg dkk., 1992 *dalam* Nugroho, 2006). Variabel yang dapat diukur untuk mengindikasikan adanya proses biodegradasi minyak antara lain adalah variabel fisik, variabel mikrobiologis, dan variabel kimia (Nugroho, 2006).

Beberapa metode yang digunakan untuk mengukur variabel tersebut adalah:

1. Variabel fisik

- a. Viskositas minyak, dengan menggunakan metode Ostwald (Nugroho, 2006).
- b. Berat minyak, dapat diukur dengan menggunakan metode Gravimetri dan Soxhlet (Djumadi, 2010). Metode gravimetri adalah metode pengambilan minyak dengan pelarut organik dan menggunakan labu pisah. Berat minyak digunakan untuk menghitung presentase degradasi. Presentase degradasi merupakan jumlah total dari hidrokarbon yang telah didegradasi oleh mikroba hidrokarbonoklastik. Presentase degradasi ini dapat dilakukan dengan menghitung berat minyak sebelum (H_{awal}) dan sesudah (H_{akhir}) proses degradasi

$$\% \text{ degradasi} = (H_{awal} - H_{akhir}) \times 100\% \text{ (Eaton, dkk., 2005).}$$

2. Variabel mikrobiologis

Variabel mikrobiologis dapat ditentukan dengan cara menghitung jumlah total sel bakteri (Nugroho, 2006). Beberapa metode yang dapat digunakan untuk menghitung jumlah sel bakteri adalah :

- a. Metode langsung, yaitu menghitung secara langsung sel mikroba dengan menggunakan haemositometer atau *elektronic cell counter*.
- b. Metode tidak langsung, yaitu dengan menggunakan metode hitungan cawan, metode turbidimetri.
 - Metode hitungan cawan atau *Total Plate Count* (TPC) didasarkan pada anggapan bahwa setiap sel yang mampu hidup akan berkembang biak dalam satu koloni. Teknik yang digunakan dalam metode ini adalah mengencerkan sampel dan mencawakan hasil pengenceran tersebut. Metode hitungan cawan dibedakan atas dua cara yaitu: (1) Metode tuang (*pour ptate*) , dan (2) Metode permukaan (*suurfacel spread plate*). Cawan yang dipilih untuk penghitungan koloni adalah yang mengandung 30 – 300 koloni.
 - Metode turbidimetrik merupakan metode pengukuran kekeruhan biakan atau *Optical Density* (OD) dengan menggunakan fotokolorimetri atau spektrofotometer (Fardiaz, 1993).

3. Variabel kimia

Variabel kimia adalah kadar COD (cemaran minyak di perairan) dan komponen hidrokarbon yang telah hilang selama proses biodegradasi menggunakan analisis *Gas Chromatography/Mass Spectrometer* (GC/MS) (Dominguez., dkk, 2010 dan Nugroho, 2006).