

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Penelitian tentang pengaruh pemberian variasi jenis bakteri, lama waktu inkubasi, dan pemberian *bulking agent* terhadap biodegradasi limbah minyak goreng (jelantah) di tanah menghasilkan data – data sebagai berikut :

1. Jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) dan persentase degradasi jelantah (%) dengan perlakuan interaksi variasi jenis bakteri, pemberian *bulking agent*, dan lama waktu inkubasi.
2. Kelembaban dan pH tanah perlakuan.

Penelitian ini menggunakan perlakuan variasi jenis bakteri, dengan dan tanpa pemberian *bulking agent* serta variasi lama waktu inkubasi pada setiap perlakuan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh ketiga variabel tersebut dan interaksinya terhadap biodegradasi limbah minyak goreng (jelantah).

#### **4.1 Pengaruh Variasi Jenis Bakteri terhadap Jumlah Total Bakteri (CFU/g-tanah) dan Persentase Degradasi Jelantah (%)**

Hasil penelitian dari pengaruh perlakuan variasi jenis bakteri terhadap jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) dan persentase degradasi jelantah (%) disajikan pada tabel 4.1 dan gambar 4.1 dan 4.2

Tabel 4.1 Rata-rata log jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) dan rata – rata persentase degradasi jelantah (%) dengan perlakuan variasi jenis bakteri yang berbeda

Perlakuan Variasi Jenis Bakteri	Rata-rata <sup>10</sup> Log TPC (CFU/g-tanah)	Rata-rata Persentase Degradasi Minyak (%)
K	10,01±0,51	35,71±3,21
A	11,61±0,74	34,16±2,22
B	13,28±1,27	44,49±2,22
C	12,22±1,12	35,99±2,22
D	13,15±0,84	39,54±1,82

Keterangan :

K : perlakuan kontrol tanpa penambahan bakteri

A : *Micrococcus* sp.

B : *Micrococcus* sp. dan *Acinetobacter* sp.

C : *Acinetobacter* sp. *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas putida*

D : *Micrococcus* sp., *Acinetobacter* sp., *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas putida*

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan variasi jenis bakteri terhadap jumlah total bakteri dan persentase degradasi jelantah maka dilakukan uji statistik. Pertama, untuk mengetahui data jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) dan persentase degradasi jelantah berdistribusi normal atau tidak maka dilakukan uji *One Sample Kolmogorov-Smirnov*. Selanjutnya data tersebut diuji homogenitasnya. Data jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) dan data persentase degradasi jelantah (%) berdistribusi normal karena  $p \geq 0,05$ . Hasil uji homogenitas menunjukkan data persentase degradasi jelantah (%) dan data jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) homogen karena  $p \geq 0,05$  (Lampiran 9).

Data rata-rata log jumlah total bakteri dan persentase degradasi jelantah berdistribusi normal-homogen, sehingga dilakukan uji *Two Way Anova*. Dari hasil uji *Two Way Anova*, data jumlah total bakteri menunjukkan  $p \geq 0,05$  dan degradasi jelantah menunjukkan  $p \leq 0,05$  (Lampiran 10). Sehingga,  $H_0$  ditolak untuk persentase degradasi, dan diterima untuk jumlah bakteri, yaitu tidak ada pengaruh

pemberian variasi jenis bakteri terhadap jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) dan ada pengaruh perlakuan variasi jenis bakteri terhadap persentase degradasi jelantah (%). Hasil uji beda nyata ada pada tabel di bawah ini,

Tabel 4.2 Hasil uji Duncan rata – rata persentase degradasi jelantah (%) dengan perlakuan variasi jenis bakteri yang berbeda

Perlakuan Variasi Jenis Bakteri	Rata-rata Persentase Degradasi Minyak (%)
K	35,71±3,21 <sup>a</sup>
A	34,16±2,22 <sup>a</sup>
B	44,49±2,22 <sup>b</sup>
C	35,99±2,22 <sup>a</sup>
D	39,54±1,82 <sup>ab</sup>

Keterangan :

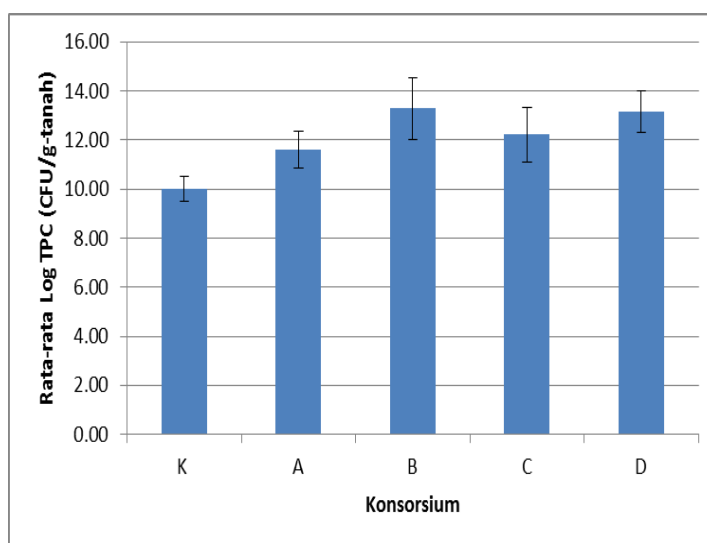
K : perlakuan kontrol tanpa penambahan bakteri

A : *Micrococcus* sp.

B : *Micrococcus* sp. dan *Acinetobacter* sp.

C : *Acinetobacter* sp. *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas putida*

D : *Micrococcus* sp., *Acinetobacter* sp., *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas putida*



Keterangan :

K : perlakuan kontrol tanpa penambahan bakteri

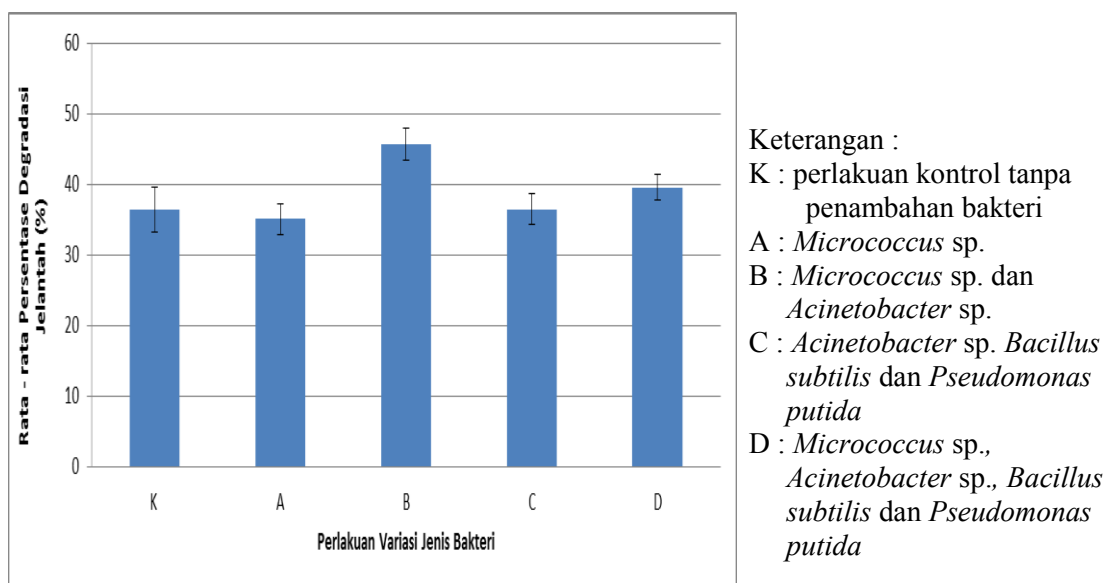
A : *Micrococcus* sp.

B : *Micrococcus* sp. dan *Acinetobacter* sp.

C : *Acinetobacter* sp. *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas putida*

D : *Micrococcus* sp., *Acinetobacter* sp., *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas putida*

Gambar 4.1 Grafik rata – rata <sup>10</sup>Log jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) dengan perlakuan variasi jenis bakteri yang berbeda



Gambar 4.2 Grafik rata – rata persentase degradasi jelantah (%) dengan perlakuan variasi jenis bakteri yang berbeda.

Berdasarkan gambar 4.1 menunjukkan log rata – rata jumlah bakteri paling tinggi adalah pada perlakuan B sebesar 13,28 CFU/g-tanah. Rata – rata log jumlah bakteri terendah ada pada perlakuan kontrol atau tanpa penambahan bakteri sebesar 10,01 CFU/g-tanah. Hasil dari rata – rata log jumlah bakteri didukung dengan hasil persentase degradasi yang menunjukkan perlakuan B (*Mirococcus* sp. dan *Acinetobacter* sp.) memiliki persentase degradasi tertinggi yaitu sebesar 44,49%. Sedangkan perlakuan variasi jenis bakteri yang memiliki rata-rata persentase degradasi terendah adalah perlakuan A (*Micrococcus* sp.) yaitu sebesar 34,16%.

Perlakuan kontrol memiliki rata-rata jumlah total bakteri rendah karena dalam perlakuannya tidak ditambahkan dengan bakteri eksogen. Hal ini dapat didukung oleh adanya data jumlah total bakteri eksogen yang diberikan pada perlakuan dan data indigen tanah (Lampiran 8). Dari data ini dapat terlihat bahwa kontrol yang tanpa ditambah dengan bakteri eksogen memiliki rata – rata log jumlah total bakteri hidrokarbonoklastik 6,64 CFU/g-tanah. Tanpa

memperhatikan bakteri heterotrofik yang ada di dalamnya, perlakuan kecuali kontrol, rata-rata semuanya mendapat tambahan log jumlah bakteri eksogen sebesar 17 CFU/10g-tanah. Oleh karena itu, jumlah total bakteri pada perlakuan kontrol lebih sedikit jika dibandingkan dengan perlakuan lain.

Menurut Udiharto dan Sudaryono (1999), penggunaan mikroorganisme indigen saja dalam proses bioremediasi belum maksimal sehingga diperlukan inokulasi mikroorganisme eksogen yang merupakan konsorsium beberapa bakteri potensial pendegradasi pencemar. Pada gambar 4.1 dan 4.2 menunjukkan perlakuan A memiliki rata-rata persentase degradasi jelantah terendah, walaupun rata-rata jumlah total bakterinya (CFU/g-tanah) lebih tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Padahal, jika dilihat dari data jumlah total bakteri eksogen dan indigen, *Micrococcus* sp. sebagai mikroba hidrokarbonoklastik yang memiliki jumlah total bakteri lebih banyak jika dibandingkan dengan bakteri hidrokarbonoklastik indigen pada kontrol (Lampiran 8). Berbeda dengan perlakuan B yang selain ditambahkan dengan *Micrococcus* sp. juga ditambahkan dengan *Acinetobacter* sp. menunjukkan hasil rata-rata jumlah total bakteri dan rata-rata persentase degradasi jelantah tertinggi. Hal ini berarti, perlakuan kontrol saja sudah lebih baik dalam mendegradasi jelantah jika dibandingkan dengan hanya ditambahkan dengan bakteri *Micrococcus* sp. Namun, degradasi akan lebih baik lagi jika dalam perlakuan tersebut ditambahkan dengan *Micrococcus* sp. dan *Acinetobacter* sp. Adanya inokulum konsorsium bakteri hidrokarbonoklastik (bioaugmentasi) dapat mendegradasi hidrokarbon secara spesifik dan lebih luas (Leahy dan Colwell dalam Astuti, 2012)

Menurut Astuti (2012) dalam hasil penelitiannya tentang pengaruh variasi inokulum terhadap biodegradasi minyak bumi, menyebutkan inokulum konsorsium bakteri yang semakin banyak, menjadikan semakin tinggi pula persentase degradasi minyak. Dari hasil ini tidak sesuai dengan pernyataan tersebut. Walaupun uji statistik menunjukkan perlakuan variasi jenis bakteri tidak memberikan pengaruh terhadap jumlah total bakteri namun, ada pengaruh terhadap persentase degradasi jelantah. Penelitian ini menunjukkan variasi D yang terdiri atas 4 jenis bakteri, rata-rata jumlah total bakteri dan persentase degradasinya lebih rendah daripada perlakuan B yang hanya terdiri dari 2 jenis bakteri. Walaupun keduanya tidak ada beda nyata. Sehingga, diduga proses biodegradasi tidak hanya dipengaruhi oleh banyaknya jenis bakteri yang ditambahkan, melainkan ada faktor lain yang mempengaruhi proses biodegradasi. Salah satu faktor yang memungkinkan adalah adanya interaksi antagonistik antara bakteri yang ditambahkan dengan bakteri *indigenus* pada tanah dan serbuk gergaji. Selain itu, diduga antibakteri eksogen yang ditambahkan juga terjadi reaksi antagonistik. 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. Menurut USEPA (1998) minyak di alam diuraikan oleh sejumlah mikroba yang secara sinergis dan saling tergantung satu sama lain.

Pada perlakuan D juga terdapat bakteri *Micrococcus* sp. dan *Acinetobacter* sp., namun jumlah yang dimasukkan pada perlakuan D lebih sedikit daripada

perlakuan B. Pada perlakuan B, kedua bakteri ini ditambahkan masing-masing 1 mL sedangkan pada perlakuan D masing – masing ditambahkan 0,5 mL (karena terdiri atas 4 jenis bakteri) pada OD yang sama. Sehingga, dapat diduga bahwa bakteri *Micrococcus* sp. dan *Acinetobacter* sp. secara sinergis berpotensi dalam menggunakan jelantah sebagai sumber karbonnya dalam jumlah yang cukup. Jika populasi dari keduanya dikurangi maka potensinya pun semakin berkurang. Jadi degradasi bisa dipengaruhi oleh jenis bakteri yang saling sinergis dengan jumlah yang optimal. Menurut Mujab (2011) dalam proses biodegradasi minyak, jenis dan jumlah mikroorganisme mempengaruhi proses biodegradasi.

#### 4.2 Pengaruh Lama Waktu Inkubasi terhadap Jumlah Total Bakteri (CFU/g-tanah) dan Persentase Degradasi Jelantah (%)

Hasil penelitian dari jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) dan persentase degradasi jelantah (%) selama waktu inkubasi tertentu disajikan kedalam tabel 4.3 dan gambar 4.3 dan 4.4.

Tabel 4.3 Rata-rata log jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) dan rata – rata persentase degradasi jelantah (%) dengan lama waktu inkubasi yang berbeda

Perlakuan Minggu ke-	Rata- rata <sup>10</sup> Log TPC (CFU/g-tanah)	Rata-rata Persentase Degradasi Minyak (%)
M1	15,79	22,25
M2	15,61	30,60
M4	8,84	48,90
M6	8,16	55,32

Keterangan :

M1 : perlakuan minggu ke-1

M2 : perlakuan minggu ke-2

M4 : perlakuan minggu ke-4

M6 : perlakuan minggu ke-6

Untuk mengetahui pengaruh lama waktu inkubasi terhadap jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) dan persentase degradasi jelantah (%) maka dilakukan uji statistik. Pertama, untuk mengetahui data jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) dan persentase degradasi jelantah berdistribusi normal atau tidak maka dilakukan uji *One Sample Kolmogorov-Smirnov*. Selanjutnya data tersebut diuji homogenitasnya. Data jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) dan data persentase degradasi jelantah (%) berdistribusi normal karena  $p \geq 0,05$  (Lampiran 10). Hasil uji homogenitas menunjukkan data persentase degradasi jelantah (%) homogen karena  $p \geq 0,05$ , sedangkan data jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) tidak homogen karena  $p \leq 0,05$  (Lampiran 12).

Data rata-rata log jumlah total bakteri berdistribusi normal-tidak homogen, maka dilakukan uji *Brown Forsythe*. Data rata-rata persentase degradasi jelantah berdistribusi normal-homogen, maka dilakukan uji *Two Way Anova*. Dari hasil uji *Two Way Anova* dan uji *Brown Forsythe* menunjukkan  $p \leq 0,05$  (Lampiran 13) sehingga tolak  $H_0$  yaitu ada pengaruh lama waktu inkubasi terhadap jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) dan persentase degradasi jelantah(%). Selanjutnya, untuk mengetahui perbedaan antarperlakuan dilakukan uji *Duncan* untuk data persentase degradasi jelantah (%) dan dilakukan uji *Games – Howell* untuk data jumlah total bakteri (CFU/g-tanah). Dari hasil uji *Duncan* menunjukkan setiap perlakuan waktu inkubasi ada beda nyata terhadap perlakuan waktu inkubasi yang lainnya kecuali pada perlakuan minggu ke-1 dan ke-2 yang tidak ada beda nyata (Lampiran 15). Sedangkan pada uji *Games – Howell* pengaruh lama waktu inkubasi terhadap jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) menunjukkan perlakuan



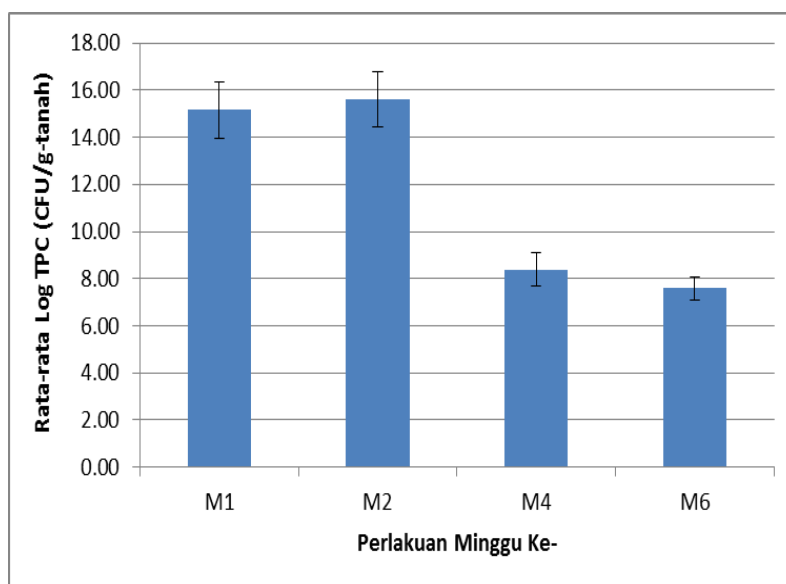
minggu ke-1 ada beda dengan perlakuan minggu ke-4 dan ke-6, dan perlakuan minggu ke-2 ada beda dengan perlakuan minggu ke-4 dan ke-6 (Lampiran 15).

Hasil uji *Duncan* dan *Games Howell* ditunjukkan pada tabel 4.4 dibawah ini

Tabel 4.4 Hasil uji beda nyata rata-rata log jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) dan rata – rata persentase degradasi jelantah (%) dengan lama waktu inkubasi yang berbeda

Perlakuan Minggu ke-	Rata- rata <sup>10</sup> Log TPC (CFU/g-tanah)	Rata-rata Persentase Degradasi Minyak (%)
M1	15,79±1,22 <sup>b</sup>	22,25±1,67 <sup>a</sup>
M2	15,42±1,18 <sup>b</sup>	30,60±2,13 <sup>a</sup>
M4	8,84±0,70 <sup>a</sup>	48,90±1,96 <sup>b</sup>
M6	8,16±0,43 <sup>a</sup>	55,32±3,29 <sup>c</sup>

\*notasi yang berbeda menunjukkan adanya beda signifikan



Keterangan :

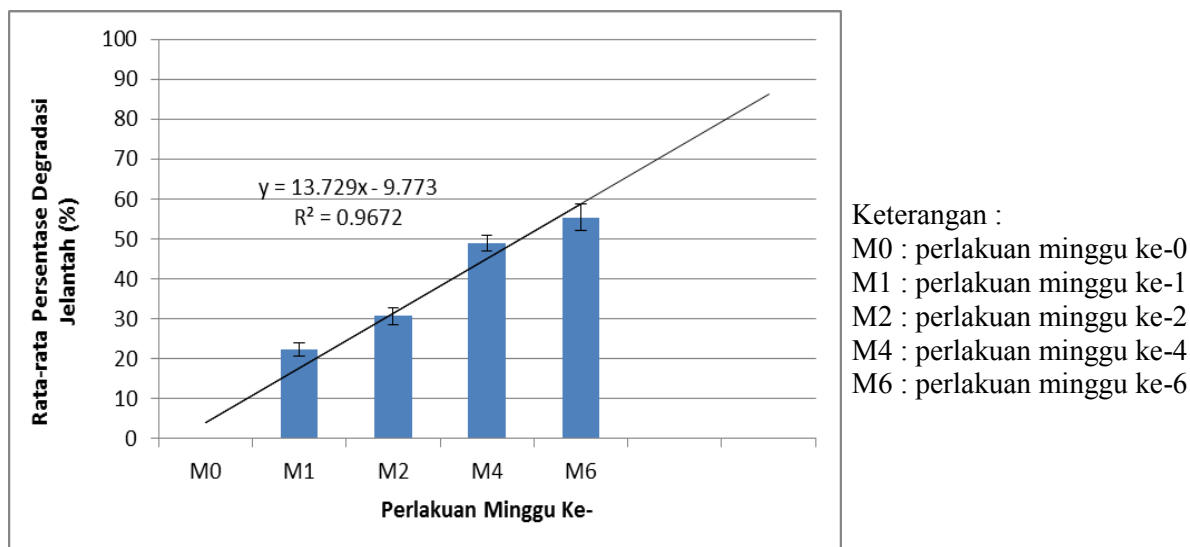
M1 : perlakuan minggu ke-1

M2 : perlakuan minggu ke-2

M4 : perlakuan minggu ke-4

M6 : perlakuan minggu ke-6

Gambar 4.3 Grafik rata-rata <sup>10</sup>Log jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) selama waktu inkubasi tertentu



Gambar 4.4 Grafik rata-rata persentase degradasi jelantah (%) selama waktu inkubasi tertentu

Pada gambar 4.3 menunjukkan bahwa setiap minggunya selama 6 minggu jumlah total bakteri mengalami penurunan. Terlihat dari minggu pertama rata – rata log jumlah bakteri mencapai 15.79 CFU/g-tanah, sampai pada minggu ke 6 mencapai 8.16 CFU/g-tanah. Sedangkan pada gambar 4.4 menunjukkan persentase degradasi jelantah mengalami peningkatan sampai menuju minggu ke-6. Pada minggu ke-6 menunjukkan rata-rata persentase degradasi terbaik yaitu sebesar 55,32%.

Adanya beda nyata antarperlakuan berarti menunjukkan adanya penurunan jumlah bakteri dan peningkatan persentase degradasi setiap minggunya. Rata- rata log jumlah total bakteri terbanyak terlihat pada minggu pertama yaitu sebesar 15,79 CFU/g-tanah dan yang terendah adalah pada minggu ke-6 yaitu 8,16% CFU/g-tanah. Sebaliknya, rata-rata persentase degradasi jelantah tertinggi pada minggu ke-6 yaitu 55,32% dan rata-rata persentase degradasi jelantah terendah pada minggu ke-1 yaitu 22,25%. Pada minggu ke-1 menunjukkan jumlah bakteri yang tinggi dan

sudah terjadi degradasi jelantah mencapai 22,25%. Hal ini berarti dapat diduga bahwa pada minggu pertama bakteri sudah mengalami fase eksponensial menuju ke fase stasioner. Menurut Handayani (2006) fase eksponensial adalah fase pertumbuhan yang memiliki laju pembelahan sel yang tetap. Pada minggu ke-2 rata-rata jumlah total bakteri sudah mulai menurun (walaupun tidak signifikan) dan persentase degradasi mulai meningkat. Oleh karena itu, mulai minggu ke-2 ini diduga masuk fase stasioner. Fase stasioner yaitu fase dimana jumlah sel mencapai maksimal, laju pembiakan berkurang dan beberapa sel mati yang ditunjukkan oleh menyusutnya nutrisi dalam media (Handayani, 2006).

Rata-rata log jumlah total bakteri (CFU/g-tanah), mengalami penurunan secara drastis pada minggu ke-2 sampai minggu ke-6. Penurunan jumlah bakteri ini diduga diakibatkan karena kelembaban perlakuan yang tidak memenuhi standar optimal kelembaban proses biodegradasi (50-80%). Menurut Santosa (1999) kelembaban berkisar antara 50-80% sebagai kelembaban yang optimal untuk keberlangsungan aktivitas mikroba. Saat dilakukan pengambilan data kelembaban pada minggu ke-2 perlakuan menunjukkan kelembaban sekitar 50%. Namun pada saat penghitungan kelembaban pada minggu ke-3 menunjukkan kelembaban mengalami penurunan yang sangat drastis dengan rata – rata mencapai 30%. Menurut Leahy dan Colwell *dalam* Astuti (2012) kadar air yang terbatas dapat menghambat pertumbuhan dan metabolisme sel selama proses degradasi hidrokarbon. Namun, pada gambar 4.4 menunjukkan persentase degradasi justru mengalami kenaikan setiap minggunya. Hal ini berarti bakteri masih dapat bertahan hidup walaupun kadar air perlakuan sangat rendah. Setelah ditarik garis regresi

menunjukkan minggu ke-6 seharusnya memiliki rata-rata persentase degradasi jelantah  $\geq 60\%$ . Berarti hal ini menunjukkan bahwa berkurangnya jumlah bakteri mempengaruhi proses biodegradasi minyak yang tidak sesuai dengan prediksi.

Penurunan jumlah bakteri selama waktu inkubasi yang dibarengi dengan kenaikan persentase degradasi jelantah kemungkinan juga dapat diduga karena penurunan sumber karbon yang digunakan bakteri sebagai unsur makro pertumbuhan bakteri hidrokarbonoklastik. Jika bakteri yang ada di dalam perlakuan diduga semuanya menggunakan hidrokarbon jelantah sebagai sumber karbon utamanya, maka akan terjadi persaingan antarbakteri dalam penggunaan sumber karbon tersebut untuk pertumbuhan masing-masing bakteri. Menurut Mujab (2011) dalam proses biodegradasi minyak, bakteri memiliki metabolisme yang berbeda-beda. Sedangkan menurut Sugoro (2002) pada umumnya bila bakteri berupa konsorsium maka tahapan yang biasa dilakukan dari jalur metabolisme akan lebih panjang dan lebih menguntungkan bila terjadi sifat sinergisme. Jadi, apabila sifat sinergisme ini tidak terjadi, maka antarbakteri akan melakukan persaingan dalam penggunaan nutrisi, sehingga, jelantah yang ada pada perlakuan berkurang, namun diduga sejumlah bakteri juga mengalami kematian karena kalah bersaing dengan bakteri yang lainnya. Menurut Astuti (2012) ketersediaan nutrien yang semakin berkurang tetapi jumlah total sel bakteri tinggi akan menyebabkan terjadinya kompetisi.

Penurunan jumlah bakteri sampai pada minggu ke-6 ini kemungkinan juga diduga karena metabolit sekunder selama proses biodegradasi yang bersifat toksik terhadap bakteri itu sendiri. Karena menurut Astuti (2012) diduga terdapat bakteri

tertentu yang tidak dapat menggunakan senyawa hidrokarbon maupun senyawa hasil metabolismenya sebagai sumber karbon untuk pertumbuhannya sehingga bersifat toksik bagi bakteri dan menyebabkan kematian bakteri. Menurut Hee, dkk. *dalam* Astuti (2012) senyawa yang tidak terdegradasi lebih lanjut akan terakumulasi dan menjadi lebih toksik untuk bakteri.

Bakteri memerlukan waktu untuk mendegradasi jelantah. Hasil penelitian dari Zulfa (2010) menunjukkan adanya pengaruh lama waktu inkubasi terhadap jumlah total mikroba (CFU/g-tanah) selama proses bioremediasi tanah dari limbah jelantah. Selama 4 minggu log jumlah mikroba mencapai 12,875 CFU/g-tanah. Begitu juga dengan penelitian Hadi (2011) waktu inkubasi berpengaruh signifikan terhadap jumlah total mikroba dan kadar *oil sludge*. Pada minggu ke-4 log jumlah mikroba mencapai 12,778 CFU/g-tanah dan persentase degradasi mencapai 24,59%. Pada penelitian Munawar (2007) tentang bioremediasi tumpahan minyak menunjukkan jumlah total bakteri meningkat pada minggu ke 4 dan menurun pada minggu ke 6 serta persentase degradasi meningkat setelah 6 minggu (88,25%). Hal ini menunjukkan bahwa proses biodegradasi jelantah oleh mikroba memerlukan waktu untuk mendapatkan hasil yang terbaik. Menurut Nugroho *dalam* Hadi (2011) dalam melakukan pembelahan diri, mikroba memerlukan waktu untuk menyesuaikan dan menggunakan senyawa yang ada pada lingkungannya.

Selanjutnya, untuk memprediksikan waktu yang paling tepat untuk mendapatkan hasil persentase degradasi 100% digunakan analisis regresi dari data pengaruh lama waktu inkubasi terhadap rata-rata persentase degradasi jelantah. Analisis dilakukan dengan menggunakan persamaan regresi  $y = 13,2729x - 9,7724$

(persamaan dapat dilihat pada gambar 4.4) yang didapat dari data rata-rata persentase degradasi jelantah (%). Nilai  $y$  adalah persentase degradasi jelantah (%) dan nilai  $x$  adalah lama waktu inkubasi (minggu). Persentase degradasi 100% dimasukkan ke dalam persamaan  $y$  tersebut, sehingga didapatkan nilai  $x = 7,99$ . Jadi, biodegradasi jelantah diprediksi akan terjadi sempurna (100% minyak hilang dari tanah) selama 8 minggu. Waktu yang diprediksikan ini memungkinkan terjadi apabila jumlah bakteri dalam perlakuan masih potensial mendegradasi jelantah. Keberadaan bakteri ini dapat dipertahankan apabila variabel – variabel terkendali selalu di kontrol, seperti pH dan kelembaban tanah. Hal ini karena walaupun prediksi menunjukkan minggu ke-8 terjadi degradasi sempurna namun bakterinya tidak potensial mendegradasi jelantah, maka proses biodegradasi tidak mungkin akan terjadi. Menurut Astuti (2012) perlakuan dengan waktu yang optimum dalam mendegradasi hidrokarbon dapat diinokulasikan bakteri hidrokarbonoklastik kembali untuk mempertahankan atau meningkatkan proses degradasi hidrokarbon.

#### **4.3 Pengaruh Pemberian *Bulking Agent* terhadap Jumlah Total Bakteri (CFU/g-tanah) dan Persentase Degradasi Jelantah (%)**

Data hasil rata – rata  $^{10}\log$  jumlah mikroba (CFU/g-tanah) dan rata – rata persentase degradasi jelantah (%) dengan perlakuan pemberian *bulking agent* dan tanpa pemberian *bulking agent* disajikan pada tabel 4.5 dan gambar 4.5 dan 4.6.

Tabel 4.5 Rata-rata log jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) dan rata – rata persentase degradasi jelantah (%) dengan dan tanpa pemberian *bulking agent*

Perlakuan	Rata- rata <sup>10</sup> Log TPC (CFU/g-tanah)	Rata – rata Persentase Degradasi Jelantah (%)
Dengan <i>Bulking agent</i>	13,10	41,87
Tanpa <i>Bulking agent</i>	11,01	32,47

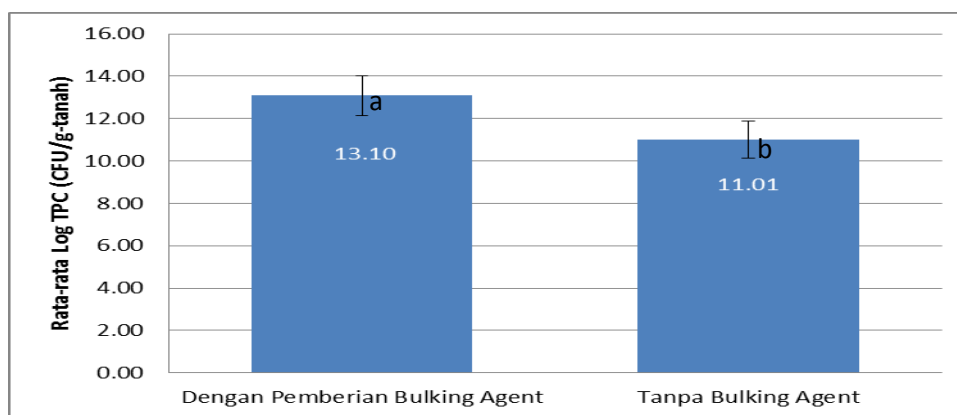
Untuk mengetahui pengaruh pemberian *bulking agent* terhadap rata-rata log jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) dan persentase degradasi jelantah (%) maka dilakukan uji statistik. Pertama, untuk mengetahui data jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) dan persentase degradasi jelantah (%) berdistribusi normal atau tidak maka dilakukan uji *One Sample Kolmogorov-Smirnov*. Selanjutnya data tersebut diuji homogenitasnya dengan uji *Levene*. Hasil statistik menunjukkan data jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) normal-tidak homogen dan data persentase degradasi jelantah (%) normal-homogen (Lampiran 16). Dikarenakan data pemberian *bulking agent* hanya terdiri atas dua kelompok perlakuan (dengan pemberian dan tanpa pemberian serbuk gergaji) maka data tidak dapat dilakukan uji *Two Way Anova* dan uji *Brown Forsythe*. Sehingga untuk mengetahui pengaruhnya terhadap jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) dan data persentase degradasi jelantah (%) digunakan uji *T-independent sample*. Dari hasil uji menunjukkan pengaruh pemberian *bulking agent* terhadap jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) memiliki  $p \leq 0,05$  (Lampiran 17). Dari hasil ini membuktikan bahwa perlakuan pemberian *bulking agent* berpengaruh terhadap jumlah total bakteri dan persentase degradasi jelantah, serta pemberian *bulking agent* berbeda nyata atau berbeda signifikan

dengan perlakuan yang tanpa ditambah dengan *bulking agent*. Hasil uji beda nyata antarperlakuan disajikan dalam tabel 4.6 dibawah ini,

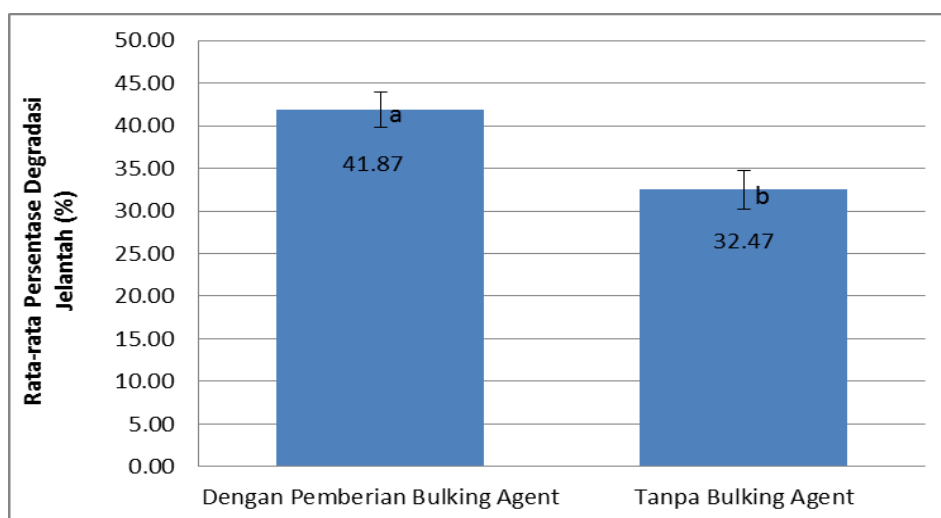
Tabel 4.6 Hasil uji beda nyata rata-rata log jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) dan rata – rata persentase degradasi jelantah (%) dengan dan tanapa pemberian *bulking agent*

Perlakuan	Rata- rata $^{10}\text{Log TPC}$ (CFU/g-tanah)	Rata – rata Persentase Degradasi Jelantah (%)
Dengan <i>Bulking agent</i>	13,10±0,94 <sup>a</sup>	41,87±2,11 <sup>a</sup>
Tanpa <i>Bulking agent</i>	11,01±0,86 <sup>b</sup>	32,47±2,25 <sup>b</sup>

\*notasi yang berbeda menunjukkan adanya beda nyata



Gambar 4.5 Grafik rata – rata  $^{10}\text{Log}$  jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) dengan perlakuan pemberian *bulking agent* dan tanpa pemberian *bulking aget*



Gambar 4.6 Grafik rata – rata persentase degradasi jelantah jelantah (%) dengan perlakuan pemberian *bulking agent*



Dari data yang disajikan pada gambar diatas menunjukkan bahwa pemberian *bulking agent* berpengaruh pada jumlah total bakteri dan persentase degradasi. Dari gambar 4.5 menunjukkan rata – rata log jumlah total bakteri pada perlakuan yang ditambah dengan *bulking agent* lebih tinggi (13,1 CFU/g-tanah) jika dibandingkan dengan perlakuan yang tanpa ditambahkan dengan *bulking agent* (11,1 CFU/g-tanah ). Pada gambar 4.6 juga menunjukkan hal yang sama, bahwa rata-rata persentase degradasi jelantah lebih banyak pada perlakuan pemberian *bulking agent* sebesar 41,87% bila dibanding dengan perlakuan tanpa pemberian *bulking agent* sebesar 32,47%. Pada penelitian Susanti (2011) tentang bioremediasi lumpur minyak dengan pemberian *bulking agent* menunjukkan perlakuan yang ditambah dengan serbuk gergaji menunjukkan degradasi terbaik jika dibandingkan dengan kontrol yang tanpa diberi *bulking agent* yaitu sebesar 27,01%. Penelitian ini menunjukkan hasil yang lebih baik jika dibandingkan dengan penelitian tersebut.

Pemberian *bulking agent* pada proses biodegradasi cemaran jelantah pada tanah dapat memperbaiki sistem aerasi tanah, sehingga keberadaan oksigen akan terpenuhi. Keberadaan *bulking agent* ini akan mengakibatkan kondisi perlakuan menjadi aerob, hal ini sangat mendukung pertumbuhan bakteri eksogen karena keempat bakteri yang ditambahkan bersifat aerob, terutama bakteri *Acinetobacter* sp. yang bersifat aerob obligat. Menurut Budiharjo (2007) *bulking agent* yang ditambahkan dalam proses bioremediasi dapat memperbaiki permeabilitas, *water holding capacity*, dan meningkatkan porositas tanah sehingga memperbaiki sistem aerasi di dalam tanah sehingga laju biodegradasi meningkat. Menurut Malatova dalam Astuti (2012) degradasi secara aerob akan lebih cepat dan lebih efektif

dibandingkan dengan degradasi anaerob karena menggunakan energi yang lebih sedikit dan menghasilkan energi yang lebih banyak dibandingkan dengan reaksi anaerob. Menurut Prince (2003) proses biodegradasi hidrokarbon akan lebih efektif ketika dalam kondisi aerob karena bakteri secara efektif dapat mendegradasi senyawa alifatik dan aromatik.

#### 4.4 Pengaruh Interaksi dari Variasi Jenis Bakteri, Pemberian *Bulking Agent*, dan Lama Waktu Inkubasi terhadap Jumlah Total Bakteri (CFU/G-Tanah) dan Persentase Degradasi Jelantah (%)

Data hasil interaksi antara perlakuan variasi jenis bakteri, lama waktu inkubasi, dan pemberian *bulking agent* terhadap jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) dan persentase degradasi jelantah disajikan dalam tabel 4.6 dan 4.6 serta pada gambar 4.7 dan 4.8.

Tabel 4.7 Rata-rata log jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) dengan perlakuan variasi jenis bakteri, lama waktu inkubasi dan pemberian *bulking agent* yang berbeda

Perlakuan	<i>Bulking agent</i>	<sup>10</sup> Log Rata-rata TPC (CFU/g-tanah) Minggu ke-			
		M1	M2	M4	M6
K	-	10,91	9,75	6,94	6,54
	+	13,30	17,82	7,12	6,83
A	-	15,73	13,51	8,67	7,65
	+	17,09	13,66	10,53	7,77
B	-	15,04	20,13	9,22	7,67
	+	14,79	22,00	9,89	8,07
C	-	17,45	15,78	7,77	7,81
	+	17,00	13,73	9,63	7,62
D	-	18,39	12,31	8,83	8,63
	+	17,89	23,31	7,97	8,61

Tabel 4.8 Rata-rata persentase degradasi jelantah (%) dengan perlakuan variasi jenis bakteri, lama waktu inkubasi dan pemberian *bulking agent* yang berbeda

Perlakuan Variasi Jenis Bakteri	<i>Bulking Agent</i>	Rata-rata Persentase Degradasi Jelantah (%)			
		M1	M2	M4	M6
K	-	10.88	26.73	28.56	57.79
	+	19.52	41.14	48.93	62.72
A	-	19.51	26.82	31.23	44.74
	+	23.40	28.63	46.43	54.69
B	-	31.70	36.04	43.55	50.84
	+	33.30	44.12	58.12	72.64
C	-	21.43	22.79	40.30	48.98
	+	31.62	44.35	47.80	53.26
D	-	12.48	24.25	42.73	48.24
	+	28.28	34.82	59.72	60.67

Keterangan :

K: perlakuan kontrol tanpa penambahan bakteri

A: penambahan *Micrococcus* sp.

B: penambahan *Micrococcus* sp. dan *Acinetobacter* sp.

C: penambahan *Acinetobacter* sp. *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas putida*

D: penambahan *Micrococcus* sp., *Acinetobacter* sp., *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas putida*

- : perlakuan tanpa penambahan *bulking agent*

+ : perlakuan dengan penambahan *bulking agent*

M0: perlakuan minggu ke – 0

M1: perlakuan minggu ke – 1

M2: perlakuan minggu ke – 2

M4: perlakuan minggu ke – 4

M6: perlakuan minggu ke – 6

Untuk membuktikan adanya pengaruh interaksi antara perlakuan variasi jenis bakteri, lama waktu inkubasi, dan pemberian *bulking agent* pada proses biodegradasi jelantah, maka dilakukan uji statistik. Pertama, untuk mengetahui data rata – rata jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) dan rata – rata persentase degradasi jelantah berdistribusi normal atau tidak maka dilakukan uji *One Sample Kolmogorov-Smirnov*. Selanjutnya data tersebut diuji homogenitasnya. Data rata-rata log jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) dan data rata – rata persentase degradasi jelantah (%) berdistribusi normal karena  $p \geq 0,05$ . Hasil uji homogenitas

menunjukkan data persentase degradasi jelantah (%) dan data jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) tidak homogen karena  $p \leq 0,05$  (Lampiran 18). Dikarenakan data rata-rata persentase degradasi jelantah dan rata-rata log jumlah total bakteri tidak homogen, maka tidak dapat dilanjutkan dengan uji *Two Way Anova*. Sehingga, dilakukan uji *Brown Forsythe*. Dari hasil uji menunjukkan bahwa  $p \leq 0,05$ , (Lampiran 19) maka  $H_0$  ditolak, yaitu ada pengaruh interaksi variasi jenis bakteri, lama waktu inkubasi, dan pemberian *bulking agent* terhadap jumlah total bakteri dan persentase degradasi jelantah.

Kemudian untuk mengetahui beda nyata dari pengaruh interaksi variasi jenis bakteri, lama waktu inkubasi, dan pemberian *bulking agent* terhadap jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) dan persentase degradasi jelantah (%) dilakukan uji *Games-Howell* karena kedua data normal-tidak homogen. Hasil uji *Games-Howell* dari pengaruh interaksi variasi jenis bakteri, lama waktu inkubasi, dan pemberian *bulking agent* terhadap rata – rata jumlah total bakteri dan persentase degradasi jelantah ditunjukkan pada tabel di bawah ini, (tabel silang ada pada Lampiran 20 dan 21).

Tabel 4.9 Hasil uji *Games Howell* rata-rata log jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) dengan perlakuan variasi jenis bakteri, lama waktu inkubasi dan pemberian *bulking agent* yang berbeda

Perlakuan	<i>Bulking agent</i>	<sup>10</sup> Log Rata-rata TPC (CFU/g-tanah) Minggu ke-			
		M1	M2	M4	M6
K	-	10,91 <sup>fghi</sup>	9,75 <sup>defg</sup>	6,94 <sup>abc</sup>	6,33 <sup>a</sup>
	+	13,11 <sup>ijklm</sup>	17,28 <sup>nop</sup>	6,59 <sup>ab</sup>	6,73 <sup>abc</sup>
A	-	15,23 <sup>lmnop</sup>	12,87 <sup>hijk</sup>	8,48 <sup>abcdef</sup>	7,57 <sup>abcd</sup>
	+	16,39 <sup>mnop</sup>	13,66 <sup>klm</sup>	10,44 <sup>efgh</sup>	7,60 <sup>abcd</sup>
B	-	14,27 <sup>klmn</sup>	17,94 <sup>p</sup>	8,82 <sup>abcdef</sup>	7,47 <sup>abcd</sup>
	+	14,68 <sup>lmno</sup>	21,30 <sup>q</sup>	9,47 <sup>cdefg</sup>	7,87 <sup>abcde</sup>

C	-	15,70 <sup>mnopq</sup>	15,39 <sup>lmnopq</sup>	7,56 <sup>abcd</sup>	7,81 <sup>abcde</sup>
	+	16,31 <sup>mnop</sup>	13,20 <sup>klm</sup>	9,13 <sup>bcdefg</sup>	7,40 <sup>abcd</sup>
D	-	17,72 <sup>nop</sup>	11,84 <sup>ghij</sup>	8,71 <sup>abcdef</sup>	8,57 <sup>abcdef</sup>
	+	17,22 <sup>nop</sup>	22,84 <sup>q</sup>	7,82 <sup>abcde</sup>	8,51 <sup>abcdef</sup>

\*notasi yang berbeda menunjukkan adanya beda nyata

Keterangan :

K: perlakuan kontrol tanpa penambahan bakteri

A: penambahan *Micrococcus* sp.

B: penambahan *Micrococcus* sp. dan *Acinetobacter* sp.

C: penambahan *Acinetobacter* sp. *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas putida*

D: penambahan *Micrococcus* sp., *Acinetobacter* sp., *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas putida*

- : perlakuan tanpa penambahan *bulking agent*

+ : perlakuan dengan penambahan *bulking agent*

M0: perlakuan minggu ke – 0

M1: perlakuan minggu ke – 1

M2: perlakuan minggu ke – 2

M4: perlakuan minggu ke – 4

M6: perlakuan minggu ke – 6

Tabel 4.10 Hasil uji *Games Howell* rata-rata persentase degradasi jelantah (%) dengan perlakuan variasi jenis bakteri, lama waktu inkubasi dan pemberian *bulking agent* yang berbeda

Perlakuan	<i>Bulking agent</i>	Degradasi Jelantah (%) Minggu ke -			
		M1	M2	M4	M6
K	-	14,29 <sup>ab</sup>	18,0 <sup>abc</sup>	34,10 <sup>bcdefghij</sup>	49,91 <sup>ijklmnop</sup>
	+	24,02 <sup>abcde</sup>	36,90 <sup>cdefghijklm</sup>	54,79 <sup>klmnop</sup>	57,67 <sup>lmnop</sup>
A	-	17,34 <sup>abc</sup>	24,10 <sup>abcde</sup>	38,19 <sup>defghijklmn</sup>	38,92 <sup>defghijklmn</sup>
	+	12,84 <sup>a</sup>	30,97 <sup>abcdefghi</sup>	51,56 <sup>ijklmnop</sup>	59,34 <sup>mnop</sup>
B	-	31,15 <sup>abcdefghi</sup>	23,49 <sup>abcde</sup>	46,24 <sup>fghijklmnop</sup>	63,70 <sup>p</sup>
	+	34,06 <sup>bcdefghij</sup>	38,21 <sup>defghijklmn</sup>	62,55 <sup>p</sup>	66,02 <sup>p</sup>
C	-	21,43 <sup>abcd</sup>	29,06 <sup>abcdefg</sup>	46,13 <sup>fghijklmnop</sup>	47,52 <sup>ghijklmnop</sup>
	+	36,71 <sup>cdefghijklm</sup>	41,38 <sup>efghijklmno</sup>	49,4 <sup>hijklmnop</sup>	55,35 <sup>klmnop</sup>
D	-	17,67 <sup>abc</sup>	21,37 <sup>abcd</sup>	48,34 <sup>ghijklmnop</sup>	52,15 <sup>ijklmnop</sup>
	+	26,54 <sup>abcdef</sup>	29,92 <sup>abcdefgh</sup>	57,69 <sup>lmnop</sup>	62,62 <sup>p</sup>

\*notasi yang berbeda menunjukkan adanya beda nyata

Keterangan :

K: perlakuan kontrol tanpa penambahan bakteri

A: penambahan *Micrococcus* sp.

B: penambahan *Micrococcus* sp. dan *Acinetobacter* sp.

C: penambahan *Acinetobacter* sp. *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas putida*

D: penambahan *Micrococcus* sp., *Acinetobacter* sp., *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas putida*

- : perlakuan tanpa penambahan *bulking agent*

+ : perlakuan dengan penambahan *bulking agent*

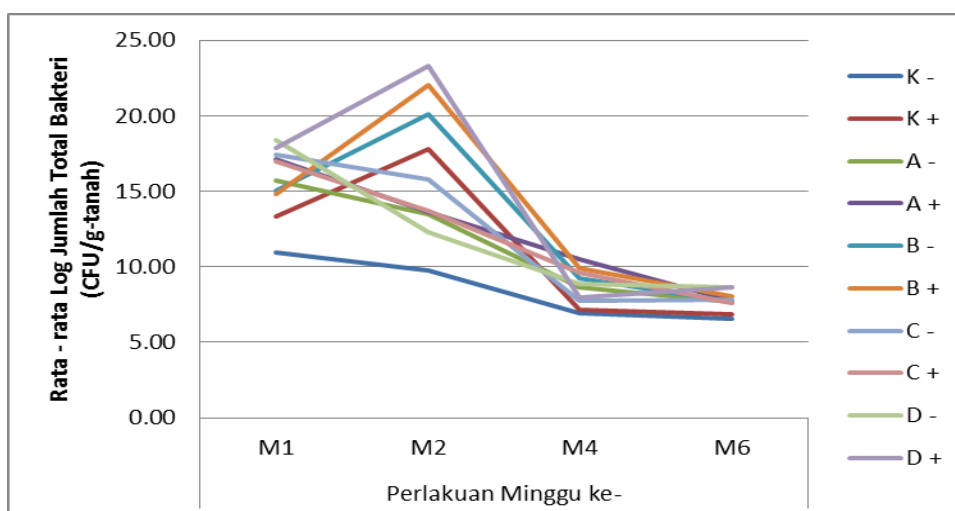
M0: perlakuan minggu ke - 0

M1: perlakuan minggu ke - 1

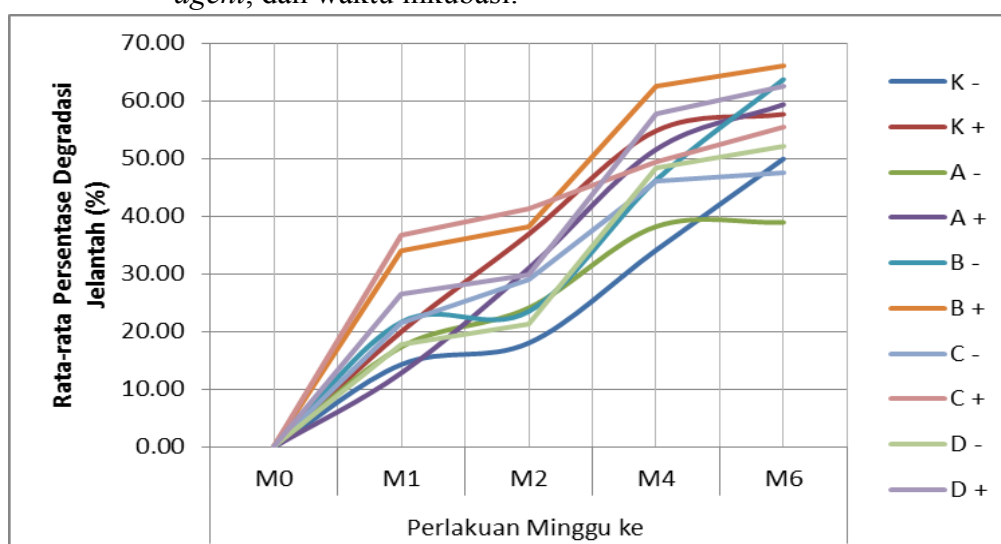
M2: perlakuan minggu ke - 2

M4: perlakuan minggu ke - 4

M6: perlakuan minggu ke - 6



Gambar 4.7 Grafik rata – rata  $^{10}\text{Log}$  jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) terhadap perlakuan variasi jenis bakteri, pemberian *bulking agent*, dan waktu inkubasi.



Gambar 4.8 Grafik rata – rata persentase degradasi jelantah (%) terhadap perlakuan variasi jenis bakteri, pemberian *bulking agent*, dan waktu inkubasi.

Keterangan :

K: perlakuan kontrol tanpa penambahan bakteri

A: penambahan *Micrococcus* sp.

B: penambahan *Micrococcus* sp. dan *Acinetobacter* sp.

C: penambahan *Acinetobacter* sp., *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas putida*

D: penambahan *Micrococcus* sp., *Acinetobacter* sp., *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas putida*

- : perlakuan tanpa penambahan *bulking agent*

+ : perlakuan dengan penambahan *bulking agent*

M0: perlakuan minggu ke – 0

M1: perlakuan minggu ke – 1

M2: perlakuan minggu ke – 2

M4: perlakuan minggu ke – 4

M6: perlakuan minggu ke – 6

Dari data yang disajikan dalam gambar 4.7 menunjukkan sebagian besar perlakuan variasi jenis bakteri mengalami kenaikan jumlah total bakteri pada minggu ke-1 sampai minggu ke-2, kemudian mengalami penurunan jumlah bakteri sampai menuju minggu ke-6. Pada waktu satu minggu ini berarti bakteri eksogen yang ditambahkan pada perlakuan sudah dapat menyesuaikan pada lingkungannya. Pada minggu selanjutnya menunjukkan sebagian bakteri mengalami penurunan, dikarenakan pada minggu ke-0 tidak dilakukan penghitungan jumlah total bakteri, maka pada minggu ke-1 sampai menuju minggu ke-2 diduga bakteri memasuki fase eksponensial menuju ke fase stasioner. Hal ini karena, persentase degradasi pada minggu pertama sampai menuju minggu ke-6 mengalami kenaikan. Menurut Handayani (2006) fase eksponensial adalah fase pertumbuhan yang memiliki laju pembelahan sel yang tetap. Sedangkan, fase stasioner yaitu fase dimana jumlah sel mencapai maksimal, laju pembiakan berkurang dan beberapa sel mati yang ditunjukkan oleh menyusutnya nutrisi dalam media.

Pada minggu keempat dan keenam rata – rata persentase degradasi jelantah mengalami peningkatan. Namun, rata – rata log jumlah total bakteri dari minggu

ke-2 sampai minggu ke-4 mengalami penurunan drastis. Penurunan jumlah total bakteri diduga terjadi karena kelembaban perlakuan yang kurang. Saat dilakukan pengambilan data kelembaban pada minggu ke-2 perlakuan menunjukkan kelembaban sekitar 50%. Namun pada saat penghitungan kelembaban pada minggu ke -3 menunjukkan kelembaban mengalami penurunan yang sangat drastis dengan rata – rata mencapai 30%. Selanjutnya setelah dilakukan penambahan kadar air untuk meningkatkan kelembaban pada minggu ke-6, rata – rata jumlah total bakteri menunjukkan jumlah yang kembali stabil seperti pada minggu ke-4. Menurut Leahy dan Colwell (1990) bahwa kadar air yang terbatas dapat menghambat pertumbuhan dan metabolisme sel selama proses biodegradasi hidrokarbon. Sehingga, kondisi kelembaban yang rendah menyebabkan pertumbuhan mikroba terhambat.

Rata-rata persentase degradasi pada minggu ke 2 sampai minggu ke-6 menunjukkan peningkatan. Walaupun rata – rata jumlah total bakteri rendah, keseluruhan dari bakteri yang ada pada perlakuan tetap melakukan degradasi. Hal ini berarti dapat diduga bahwa proses biodegradasi tidak hanya bergantung pada banyaknya jumlah bakteri namun bergantung pada kemampuan dari bakteri tersebut dalam menghasilkan enzim dan biosurfaktan serta kelarutannya dalam hidrokarbon selama proses biodegradasi. Karena, terdapat beberapa mekanisme biodegradasi jelantah yang dilakukan oleh mikroba sehingga bakteri tersebut dapat memecah ikatan hidrokarbon menjadi senyawa yang lebih sederhana. Menurut Wulandari dkk., (2010) dalam Aliyanta (2011) terdapat tiga cara transport hidrokarbon ke dalam sel bakteri secara umum yaitu : (1) Interaksi sel dengan hidrokarbon yang terlarut dalam fase air, umumnya rata-rata kelarutan hidrokarbon oleh proses fisika



sangat rendah sehingga tidak dapat mendukung, (2) Kontak langsung (perlekatan) sel dengan permukaan tetesan hidrokarbon yang lebih besar daripada sel mikroba. Perlekatan dapat terjadi karena sel bakteri bersifat hidrofobik. Sel mikroba melekat pada permukaan tetesan hidrokarbon yang lebih besar daripada sel dan pengambilan substrat dilakukan dengan difusi atau transport aktif. Perlekatan ini terjadi karena adanya biosurfaktan pada membran sel bakteri. (3) Interaksi sel dengan tetesan hidrokarbon yang telah teremulsi atau tersolubilisasi oleh bakteri. Sel mikroba berinteraksi dengan partikel hidrokarbon yang lebih kecil daripada sel. Hidrokarbon dapat teremulsi dan tersolubilisasi dengan adanya biosurfaktan yang dilepaskan oleh bakteri ke dalam medium.

Dari hasil uji statistik menunjukkan ada pengaruh interaksi antara variasi jenis bakteri, lama waktu inkubasi dan pemberian *bulking agent* pada proses degradasi jelantah. Sesuai dengan hasil ini, maka dapat diduga proses biodegradasi dipengaruhi oleh jenis – jenis bakteri yang dapat berinteraksi positif dalam mendegradasi hidrokarbon dengan pemberian *bulking agent* dan waktu inkubasi yang semakin lama, maka akan dapat mendegradasi minyak semakin baik pula. 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 dan mikroba tersebut memerlukan waktu untuk menyesuaikan dan menggunakan senyawa yang ada pada lingkungannya.

Dari seluruh data hasil rata-rata log jumlah total bakteri (CFU/g-tanah) dan data rata-rata persentase degradasi jelantah (%) menunjukkan bahwa limbah

minyak jelantah di tanah dapat di degradasi dengan menggunakan bakteri yang ditambah dengan *bulking agent* dan diinkubasi pada waktu tertentu. Dari data ini terlihat perlakuan B+ (*Micrococcus* sp. dan *Acinetobacter* sp. ditambah dengan *bulking agent*) menunjukkan persentase degradasi tertinggi, yaitu 66,02% pada minggu ke-6. Sedangkan, rata – rata log jumlah total bakteri tertinggi ditunjukkan oleh perlakuan D+M2 (*Micrococcus* sp., *Acinetobacter* sp., *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas putida* dengan pemberian *bulking agent* dan waktu inkubasi 2 minggu) dengan rata –rata log jumlah total bakteri adalah 23,31 CFU/g-tanah. Hasil ini lebih baik jika dibandingkan dengan penelitian Zulfa (2010) tentang bioremediasi tanah tercemar jelantah dengan hasil 6 bakteri dan 3 yeast dapat mendegradasi jelantah 34,88% dengan rata-rata jumlah total mikroba 12,875 CFU/g-tanah pada minggu ke-4 dengan konsentrasi jelantah dan konsentrasi mikroba yang sama. Hasil ini juga lebih baik jika dibandingkan dengan penelitian Hadi (2011) yang melakukan bioremediasi *oil sludge* dengan konsorsium mikroba dengan hasil persentase degradasi 26,91% pada minggu ke-4 oleh konsorsium kontrol tanpa pemberian bakteri.

Hasil uji beda nyata menunjukkan rata-rata log jumlah total bakteri tertinggi adalah perlakuan D+M2 (penambahan bakteri *Micrococcus* sp., *Acinetobacter* sp., *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas putida* dan ditambaha *bulking agent* yang diinkubasi 2 minggu) sebesar 23,31 CFU/g-tanah yang berbeda nyata dengan perlakuan K dan perlakuan C. Sedangkan persentase degradasi jelantah tertinggi ditunjukkan oleh perlakuan B+M6 (penambahan *Micrococcus* sp., dan *Acinetobacter* sp. ditambah *bulking agent* dan diinkubasi 6 minggu) sebesar

66,02% yang tidak ada beda nyata terhadap beberapa perlakuan lain. Hal ini berarti menunjukkan bahwa perlakuan D yang ditambah dengan 4 jenis bakteri memiliki jumlah bakteri yang lebih banyak jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Sampai pada minggu ke-6 jumlah bakteri pada perlakuan D tetap tertinggi, namun rata-rata persentase degradasi jelahannya dikalahkan oleh perlakuan B yang jumlah bakterinya tidak lebih banyak dari perlakuan D. Hal ini berarti tidak semua bakteri yang ada pada perlakuan D dapat mendegradasi jelahannya dengan baik seperti yang dilakukan oleh perlakuan B. Sehingga, diduga proses biodegradasi tidak hanya dipengaruhi oleh banyaknya jenis bakteri yang ditambahkan, melainkan ada faktor lain yang mempengaruhi proses biodegradasi. Salah satu faktor yang memungkinkan adalah adanya interaksi antagonistik antara bakteri yang ditambahkan dengan bakteri *indigenus* pada tanah dan serbuk gergaji. Selain itu, diduga antibakteri eksogen yang ditambahkan juga terjadi reaksi antagonistik. Menurut USEPA (1998) minyak di alam diuraikan oleh sejumlah mikroba yang secara sinergis dan saling tergantung satu sama lain.

Perlakuan dengan rata-rata log jumlah total bakteri terendah adalah perlakuan K-M6 yaitu 6,54 CFU/g-tanah, dan rata-rata persentase degradasi terendah adalah perlakuan A+M1 dan diikuti dengan K-M1. Hasil ini berarti menunjukkan bahwa bioaugmentasi (penambahan bakteri eksogen yang saling sinergis dalam proses bioremediasi) masih sangat diperlukan dalam proses bioremediasi. Perlakuan kontrol yang tidak ditambah dengan bakteri secara alami bisa mendegradasi jelahannya, namun prosesnya akan sangat lama. Karena, menurut Zhu, dkk. (2001) minyak yang tumpah ke lingkungan dapat di degradasi secara alami oleh berbagai

mikroba yang khusus memiliki kemampuan mendegradasi minyak, tetapi membutuhkan waktu yang lama. Hasil biodegradasi jelantah dari tanah yang tidak ditambah bakteri eksogen juga menunjukkan hasil yang lebih rendah. Sehingga, perlu dilakukan penambahan mikroba hidrokarbonoklastik selama proses bioremediasi tanah tercemar minyak. Menurut Noegroho *dalam* Mujab (2011) secara alami di dalam lingkungan sudah terdapat mikroba yang dapat mendegradasi hidrokarbon, namun untuk mendapatkan bioproses yang lebih baik masih perlu ditambahkan mikroba dari luar.

Dari hasil ini dapat diduga bahwa keempat bakteri, *Micrococcus* sp., *Acinetobacter* sp., *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas putida* tidak dapat saling sinergis dalam mendegradasi jelantah. Bakteri yang dapat diduga secara sinergis dapat menggunakan jelantah sebagai sumber karbonnya secara bersama-sama adalah bakteri *Micrococcus* sp., dan *Acinetobacter* sp., yang ada pada perlakuan B. Sehingga, perlakuan yang tepat yang digunakan dalam bioremediasi tanah tercemar jelantah bisa menggunakan campuran bakteri *Micrococcus* sp., dan *Acinetobacter* sp., dan ditambahkan dengan serbuk gergaji sebagai *bulking agent*.

Untuk mengetahui waktu maksimum terjadinya degradasi sempurna (biodegradasi 100%) maka dapat dilakukan dengan mencari regresi dari setiap perlakuan. Tabel waktu maksimum terjadinya degradasi disajikan dalam tabel 4.11 di bawah ini,

Tabel 4.11 Data regresi dan waktu maksimum terjadinya degradasi jelantah pada setiap perlakuan

Perlakuan Variasi Jenis Bakteri	<i>Bulking Agent</i>	Nilai regresi ( $R^2$ )	Rumus regresi (y)	Waktu Terjadinya Degradasi Maksimum (Minggu)
K	-	0,9691	$y = 11.964x - 12.629$	9.413992
	+	0,9579	$y = 15.011x - 11.159$	7.40517
A	-	0,9330	$y = 9.8696x - 5.898$	10.72972
	+	0,9844	$y = 15.741x - 16.281$	7.387142
B	-	0,9601	$y = 15.2x - 14.587$	7.538618
	+	0,9125	$y = 16.053x - 7.9885$	6.726998
C	-	0,9343	$y = 11.974x - 7.0963$	8.94407
	+	0,8108	$y = 12.339x - 0.4483$	8.140716
D	-	0,9431	$y = 13.497x - 12.585$	8.352623
	+	0,9409	$y = 15.64x - 11.567$	7.13344

Keterangan :

K: perlakuan kontrol tanpa penambahan bakteri

A: penambahan *Micrococcus* sp.

B: penambahan *Micrococcus* sp. dan *Acinetobacter* sp.

C: penambahan *Acinetobacter* sp. *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas putida*

D: penambahan *Micrococcus* sp., *Acinetobacter* sp., *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas putida*

- : perlakuan tanpa penambahan *bulking agent*

+ : perlakuan dengan penambahan *bulking agent*

M0: perlakuan minggu ke – 0

M1: perlakuan minggu ke – 1

M2: perlakuan minggu ke – 2

M4: perlakuan minggu ke – 4

M6: perlakuan minggu ke – 6

Dari tabel diatas dapat membuktikan bahwa perlakuan B+ (penambahan *Micrococcus* sp., dan *Acinetobacter* sp. dan diberi *bulking agent*) menjadi perlakuan yang terpilih. Hal ini karena, pada perlakuan ini minyak jelantah dapat

terdegradasi 100% dalam waktu 6,7 minggu, jauh berbeda jika dibandingkan dengan perlakuan lain yang dapat mendegradasi sempurna mencapai 7-10 minggu. Namun, prediksi ini akan terjadi apabila jumlah bakteri hidrokarbonoklastik di dalam perlakuan masih potensial sebagai pendegradasi hidrokarbon. Perlakuan B menunjukkan rata-rata log jumlah total bakteri yang lebih banyak jika dibandingkan dengan perlakuan K, A, dan C sampai pada minggu ke-6. Hal ini berarti perlakuan B dapat diprediksi akan bisa mendegradasi jelantah sampai 100% pada minggu ke-7 asalkan kondisi lingkungan di dalam perlakuan tersebut dipertahankan pada kondisi optimal untuk kehidupan bakteri hidrokarbonoklastik. Karena, walaupun prediksi menunjukkan minggu ke-7 terjadi degradasi sempurna namun bakterinya tidak potensial mendegradasi jelantah, maka proses biodegradasi tidak mungkin akan terjadi. Menurut Astuti (2012) perlakuan dengan waktu yang optimum dalam mendegradasi hidrokarbon dapat diinokulasikan bakteri hidrokarbonoklastik kembali untuk mempertahankan atau meningkatkan proses degradasi hidrokarbon.

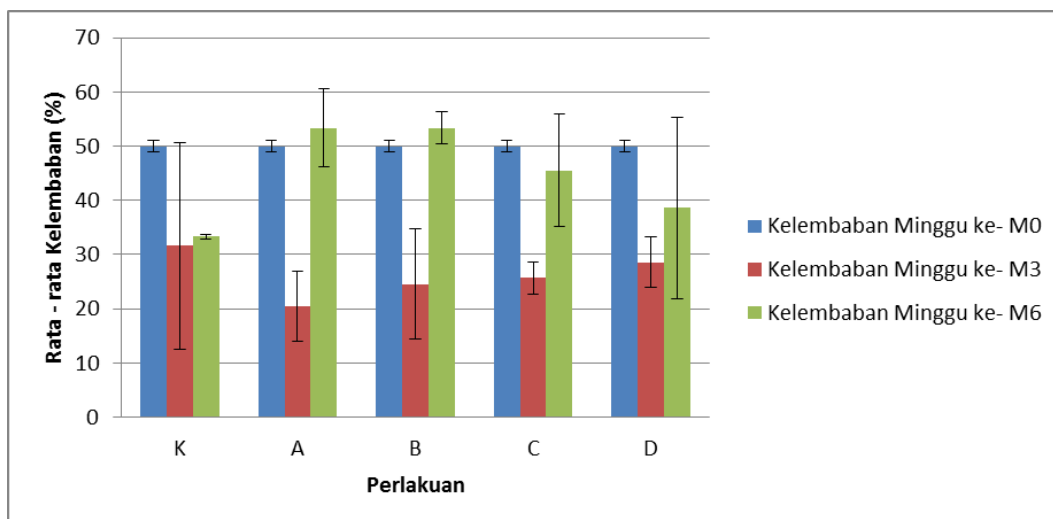
#### 4.5 Kelembaban dan pH Tanah Perlakuan

Data rata – rata kelembaban dan pH tanah disajikan pada tabel 4.10 dan 4.11 serta pada gambar 4.12 dan 4.13 dibawah ini,

Tabel 4.12 Kelembaban tanah perlakuan selama waktu inkubasi 6 minggu

PERLAKUAN	BULKING AGENT	KELEMBABAN MINGGU KE- (%)			
		M0	M2	M3	M6
K	-	50	50	18.2	32.95
	+	50	49,7	45.0	33.64
A	-	50	-	25.00	58.43
	+	50	-	15.93	48.25
B	-	50	-	17.46	46.59

	+	50	-	31.73	50.79
C	-	50	-	23.64	38.27
	+	50	-	27.78	52.83
D	-	50	-	31.82	26.74
	+	50	-	25.23	50.46



Gambar 4.9 Grafik rata – rata kelembaban (%) selama waktu inkubasi 6 minggu

Keterangan :

K: perlakuan kontrol tanpa penambahan bakteri

A: penambahan *Micrococcus* sp.

B: penambahan *Micrococcus* sp. dan *Acinetobacter* sp.

C: penambahan *Acinetobacter* sp. *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas putida*

D: penambahan *Micrococcus* sp., *Acinetobacter* sp., *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas putida*

- : perlakuan tanpa penambahan *bulking agent*

+ : perlakuan dengan penambahan *bulking agent*

M0: perlakuan minggu ke – 0

M1: perlakuan minggu ke – 1

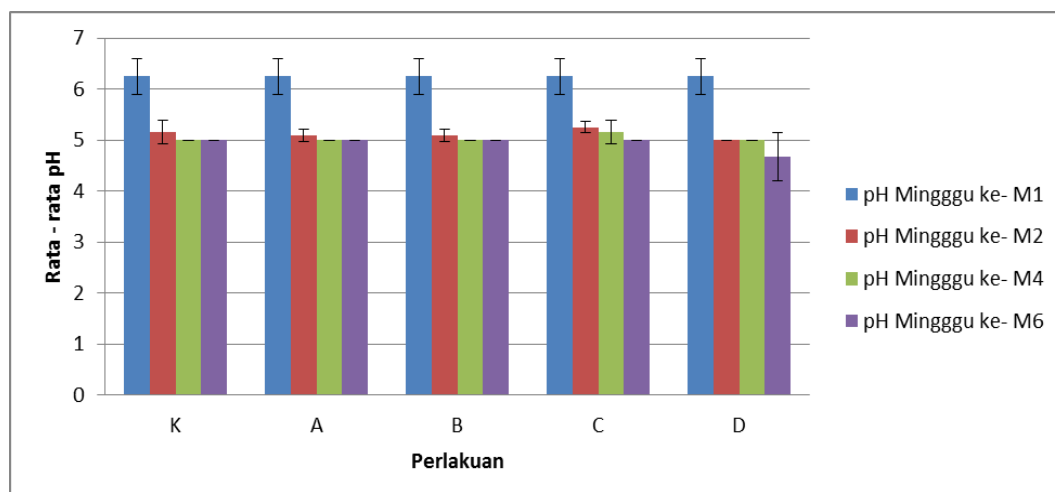
M2: perlakuan minggu ke – 2

M4: perlakuan minggu ke – 4

M6: perlakuan minggu ke – 6

Tabel 4.13 Data pH tanah selama waktu inkubasi 6 minggu

PERLAKUAN	BULKING AGENT	pH MINGGU KE -			
		M1	M2	M4	M6
K	-	6.5	5	5	5
	+	6	5.33	5	5
A	-	6.5	5	5	5
	+	6	5.17	5	5
B	-	6.5	5	5	5
	+	6	5.17	5	5
C	-	6.5	5.33	5	5
	+	6	5.17	5.33	5
D	-	6.5	5	5	5
	+	6	5	5	4.33



Gambar 4.10 Grafik rata-rata pH selama waktu inkubasi 6 minggu

Keterangan :

K: perlakuan kontrol tanpa penambahan bakteri

A: penambahan *Micrococcus* sp.

B: penambahan *Micrococcus* sp. dan *Acinetobacter* sp.

C: penambahan *Acinetobacter* sp. *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas putida*

D: penambahan *Micrococcus* sp., *Acinetobacter* sp., *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas putida*

- : perlakuan tanpa penambahan *bulking agent*

+ : perlakuan dengan penambahan *bulking agent*

M0: perlakuan minggu ke – 0

M1: perlakuan minggu ke – 1

M2: perlakuan minggu ke – 2

M4: perlakuan minggu ke – 4

M6: perlakuan minggu ke – 6



Dari gambar 4.9 dan 4.10 dapat terlihat bahwa kelembaban perlakuan mengalami fluktuasi selama perlakuan 6 minggu. Penurunan secara drastis terjadi pada minggu ke-3. Terlihat pada perlakuan K minggu ke – 3 rata – rata kelembaban mencapai 3,16%. Hal ini karena perlakuan kurang diberi air saat minggu ke – 2 sampai minggu ke – 3. Pada minggu ke – 2 hanya dilakukan pengecekan kelembaban pada perlakuan K. pada perlakuan K rata – rata kelembabannya masih 50%. Sehingga, pada minggu ke-2 ini hanya ditambahkan 2 ml akuades steril untuk menjaga kelembaban agar tetap berkisar 50-80%. Ternyata, setelah dilakukan pengecekan kelembaban pada minggu ke-3 terjadi penurunan secara drastis kelembaban tanah pada semua perlakuan. Sehingga pada minggu ke-3 ini ditambahkan 3 mL akuades streril agar kelembaban pada minggu berikutnya tetap terjaga pada kisaran normal.

Penurunan secara drastis kelembaban perlakuan ini sangat berpengaruh pada penurunan rata-rata jumlah total mikroba perlakuan. Menurut Udiharto (1996) kandungan air sangat penting untuk aktivitas metabolik mikroba, karena mikroba akan hidup aktif di fase minyak dan air. Oleh karena itu saat kelembaban menurun secara drastis maka jumlah mikroba disetiap perlakuan pun juga menurun drastis karena bakteri pada perlakuan kekurangan air saat metabolisme berlangsung. Kelembaban berkisar antara 50-80% sebagai kelembaban yang optimal untuk keberlangsungan aktivitas mikroba (Santosa, 1999).

Penurunan kelembaban ini tidak dibarengi oleh penurunan pH yang drastis, sehingga bakteri masih bisa mendegradasi jelantah walaupun keadaan air minimum. Bakteri masih dapat bertahan hidup pada kondisi kelembaban yang sangat rendah.

Hal ini terlihat pada data rata – rata degradasi jelantah pada minggu kedua sampai keempat pada semua variasi bakteri dan perlakuan pemberian dan tanpa pemberian *bulking agent* terus mengalami kenaikan (Gambar 4.8). Terlihat pada gambar 4.10 bahwa pH selama perlakuan berkisar pada pH 5 dan 6. 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).

Penurunan pH pada tanah perlakuan terjadi karena hasil metabolisme bakteri yang berupa asam. Menurut Aliyanta., dkk (2011) penurunan nilai pH tersebut diduga disebabkan oleh aktivitas konsorsium bakteri yang membentuk metabolit-metabolit asam. Menurut Rosenberg dalam Nugroho (2006) bidegradasi alkana (alifatis) pada minyak akan membentuk alkohol dan selanjutnya akan menjadi asam lemak. Asam lemak hasil degradasi alkana akan dioksidasi lebih lanjut membentuk asam asetat dan asam propionat, sehingga dapat menurunkan nilai pH medium.

Kondisi pH mempengaruhi aktivitas enzim karena aktivitas enzim dapat bekerja pada kisaran pH netral, jika terlalu asam maka enzim akan terdenaturasi (Hadi, 2012). Oleh karena itu penurunan pH yang drastis pada saat proses biodegradasi harus dihindari. Hal ini karena, bakteri – bakteri hidrokarbonoklastik dapat mendegradasi jelantah dengan menghasilkan berbagai enzim.

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.