

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biodegradasi Hidrokarbon

2.1.1 Definisi

Bioremediasi adalah perlakuan secara biologi dan penghilangan polusi dari lingkungan. Salah satu mekanisme bioremediasi yaitu biodegradasi, mikroba dapat menggunakan hidrokarbon sebagai sumber senyawa karbon dan menghasilkan energi yang besar (Scragg, 1999).

Biodegradasi terjadi karena bakteri dapat melakukan metabolisme zat organik melalui sistem enzimatik untuk menghasilkan karbondioksida, air, dan energi. Energi digunakan untuk sintesis, motilitas, dan respirasi (Husin, 2008). Biodegradasi hidrokarbon oleh mikroba merupakan salah satu metode yang tepat dan efektif untuk mengkonversi substansi berbahaya ke dalam bentuk yang lebih rendah atau non-toksik, serta tidak membutuhkan biaya yang tinggi (Atlas, 1981; Leahy dan Colvell, 1990).

2.1.2 Faktor yang dapat mempengaruhi degradasi hidrokarbon

Menurut Ni'matuzahroh, *et al.*, (2013), kecepatan biodegradasi *oil sludge* oleh mikroba bergantung pada beberapa faktor, yaitu faktor fisik dan kimia substrat, mikroba, lingkungan, serta lama waktu inkubasi. Faktor fisiko kimia substrat yaitu bentuk fisik substrat, konsentrasi minyak, komponen kimia dan ikatan-ikatan hidrokarbon penyusun substrat. Faktor mikroba, yaitu mikroba yang mempunyai kemampuan menghasilkan enzim dan biosurfaktan, kemampuan adaptasi pada substrat

dan hubungan sinergisme antar mikroba, serta jumlah mikroba. Faktor lingkungan diantaranya: suhu lingkungan, pH, oksigen, nutrisi, salinitas dan aktivitas air (Ni'matuzahroh, *et al.*, 2013).

2.2 Mikroba Potensial Pengurai Hidrokarbon

Kelompok bakteri hidrokarbonoklastik adalah bakteri yang memiliki kemampuan mendegradasi senyawa hidrokarbon untuk kebutuhan metabolisme dan perkembangbiakannya (Nugroho, 2007). Mikroba yang dapat hidup dan berperan dalam penguraian hidrokarbon adalah bakteri, sedangkan kehadiran mikroba lain yang tidak terlalu dominan tetapi cukup berperan yaitu jamur, ragi, alga, dan aktinomisetes (Chator and Somerville, 1978 dalam Nugroho, 2007).

Mikroba dalam aktivitas hidupnya memerlukan molekul karbon sebagai salah satu sumber nutrisi dan energi untuk melakukan metabolisme dan perkembangbiakannya. Senyawa hidrokarbon dalam minyak bumi merupakan sumber karbon bagi pertumbuhan mikroba tertentu, sedangkan senyawa non-hidrokarbon merupakan nutrisi pelengkap yang dibutuhkan untuk pertumbuhannya. Sumber karbon tersebut dapat dimanfaatkan untuk melangsungkan proses metabolisme dan perkembangbiakannya melalui mekanisme degradasi hidrokarbon yang khas (Nugroho, 2007).

Distribusi mikroba hidrokarbonoklastik tersebar luas baik di daratan, lautan maupun estuari serta pada seluruh kondisi iklim dari tropik sampai kutub (Atlas, 1981). Keanekaragaman dan kelimpahan mikroba pendegradasi hidrokarbon yang terdapat di

alam memiliki hubungan yang linier dengan peningkatan kadar polusi hidrokarbon (Walker dan Colwell, 1974 dalam Nugroho, 2007). Mikroba tersebut biasanya berjumlah kurang dari 1% dari populasi alami mikroba, tetapi dapat berjumlah lebih dari 10% pada ekosistem tercemar minyak bumi (US Congress, 1991 dalam Nugroho, 2006). Beberapa genus mikroba potensial pendegradasi hidrokarbon minyak dapat dilihat pada tabel 2.1 dan 2.2.

Tabel 2.1 Bakteri hidrokarbonoklastik potensial hasil isolasi dari tanah tercemar minyak yang terpilih sebagai penyusun konsorsium mikroba.

Sampel Tanah	Kode Isolat	Nama Isolat Bakteri
PERTAMINA Tanjung Perak, Surabaya	T1-4	<i>Aeromonas hydrophila</i>
	T1-8	<i>Pseudomonas putida</i>
	T2-4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	T3-3	<i>Flavobacterium meningosepticum</i>
Penambangan minyak mentah tradisional Ds. Wonocolo Kec. Kedewan, Bojonegoro.	P2-1	<i>Acinetobacter faecalis-type II</i>
	P3-4	<i>Pseudomonas cepacia</i>
	P3-7	<i>Actinobacillus sp.</i>
	P3-8	<i>Pseudomonas stutzeri</i>
	P4-2	<i>Pseudomonas pseudomallei</i>
	P4-4	<i>Pseudomonas fluorescens</i>

Sumber: (Ni'matuzahroh, *et al.*, 2009)

Tabel 2.2 *Yeast* hidrokarbonoklastik potensial hasil isolasi dari tanah tercemar minyak yang terpilih sebagai penyusun konsorsium mikroba.

Sampel Tanah	Kode Isolat	Nama Isolat Bakteri
PERTAMINA Tanjung Perak, Surabaya	T5-1Y	<i>Candida famata</i>
Penambangan minyak mentah tradisional Ds. Wonocolo Kec. Kedewan, Bojonegoro.	P1-2Y	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>
	P3-3Y	<i>Candida parapsilosis</i>

Sumber: (Ni'matuzahroh, *et al.*, 2009)

2.2.1 Bakteri penghasil biosurfaktan

Surfaktan adalah agen aktif permukaan yang mampu menurunkan tegangan permukaan dan tegangan interfasial dari cairan, salah satunya yaitu *tween-20*.

Biosurfaktan adalah kelompok senyawa aktif permukaan yang secara struktural beragam dan diproduksi oleh mikroba. Biosurfaktan pada umumnya mempunyai struktur amfifilik, biosurfaktan terdiri atas dua bagian yaitu bagian polar (hidrofilik) dan non-polar (hidrofobik). Bagian hidrofilik terdiri atas sakarida (dalam bentuk monosakarida, oligosakarida dan polisakarida), asam amino, peptida siklik, fosfat, asam karboksilat. Bagian hidrofobik pada umumnya terdiri atas asam lemak (dalam bentuk jenuh, tak jenuh dan terhidroksilasi) atau alkohol lemak (Ploeniezack, *et al.*, 2011). Biosurfaktan mempunyai toksisitas yang rendah, *biodegradable*, efektivitas pada suhu, pH, dan salinitas ekstrim (Atlas, 1981).

Penelitian Ni'matuzahroh *et al.*, (2003), dan Fatimah *et al.*, (2011) telah berhasil mendapatkan bakteri potensial penghasil biosurfaktan (*Bacillus subtilis* 3KP, *Pseudomonas putida* T1-8, dan *Acinetobacter* sp. P2-1). *Micrococcus* sp. L II 61 memiliki persentase pelarutan minyak tertinggi dibanding bakteri *Bacillus subtilis* 3KP, *Acinetobacter* sp. P2 (1), dan *Actinobacillus* sp. P3-7 (Ni'matuzahroh, *et al.*, 2013). Beberapa mikroba penghasil biosurfaktan dan jenis biosurfaktan yang dihasilkan mikroba dapat dilihat pada tabel 2.3.

Tabel 2.3. Mikroba penghasil biosurfaktan dan jenis biosurfaktan yang dihasilkan.

Type of biosurfactant	Organism
<i>Glycolipids</i>	
<i>Rhamnolipids</i>	<i>P. aeruginosa, Pseudomonas</i> sp.
<i>Trehalolipids</i>	<i>R. erythropolis, N. erythropolis, Mycobacterium</i> sp.
<i>Sophorolipids</i>	<i>T. bombicola, T. apicola</i>
<i>Cellobiolipids</i>	<i>T. petrophilum, U. zaeae, U. maydis</i>

Sumber: (Desai, & Banat, 1997)

Tabel 2.3. Mikroba penghasil biosurfaktan dan jenis biosurfaktan yang dihasilkan.
(lanjutan halaman sebelumnya)

<i>Lipopeptides and lipoproteins</i> <i>Peptide-lipid</i> <i>Serrawettin</i> <i>Viscosin</i> <i>Surfactin</i> <i>Subtilisin</i> <i>Gramicidins</i> <i>Polymyxins</i>	<i>B. licheniformis</i> <i>S. marcescens</i> <i>P. fluorescens</i> <i>B. subtilis</i> <i>B. subtilis</i> <i>B. brevis</i> <i>B. polymyxa</i>
<i>Fatty acid, neutral lipids, and phospholipids</i> <i>Fatty acid</i> <i>Neutral lipids</i> <i>Phospholipids</i>	<i>C. lepus</i> <i>N. erythropolis</i> <i>T. thiooxidans</i>
<i>Polymeric surfactans</i> <i>Emulsan</i> <i>Biodispersan</i> <i>Mannan-lipid-protein</i> <i>Liposan</i> <i>Carbohydrate-protein-lipid</i> <i>Protein PA</i>	<i>A. calcoaceticus</i> <i>A. calcoaceticus</i> <i>C. tropicalis</i> <i>C. lipolitica</i> <i>P. fluorescens, D. polymorphis</i> <i>P. aeruginosa</i>
<i>Particulate biosurfactans</i> <i>Vesicles and fimbriae</i> <i>Whole cells</i>	<i>A. calcoaceticus</i> <i>Variety of bacteria</i>

Sumber: (Desai, & Banat, 1997)

2.2.2 Bakteri penghasil enzim

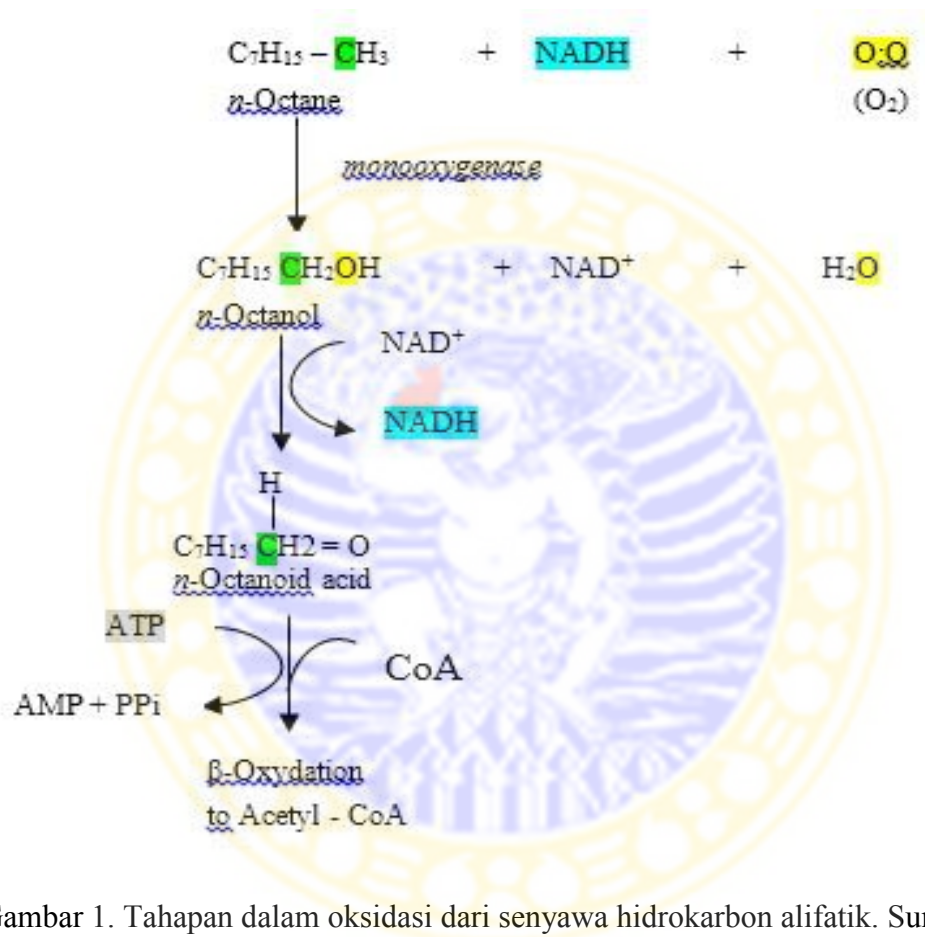
Mikroba dapat mendegradasi limbah *oil sludge* karena menghasilkan enzim untuk memutuskan ikatan rantai panjang hidrokarbon sehingga terbentuk hidrokarbon yang sederhana dan dapat digunakan sebagai sumber nutrisi untuk metabolisme mikroba (Panda, *et al.*, 2013). Enzim yang berperan dalam proses degradasi hidrokarbon adalah enzim oksigenase. Monooksigenase mengkatalis masuknya satu atom ke dalam senyawa organik. Oksigen yang bergabung dengan senyawa organik dalam bentuk hidroksil (OH) dan satu atom oksigen lainnya membentuk molekul air.

Aktivitas enzim monooksigenase sebagai katalis masuknya gugus OH dalam senyawa organik disebut juga enzim hidroksilase (Saputra, 2013). Enzim monooksigenase mampu mendegradasi alkana (C1-C8) dan sikloalkana. Partikulat metana monooksigenase mampu mendegradasi alkana (terhalogenasi, C1-C5) dan sikloalkana. Enzim dioksigenase mampu mendegradasi alkana (C10-C30) (Das & Chandran, 2011).

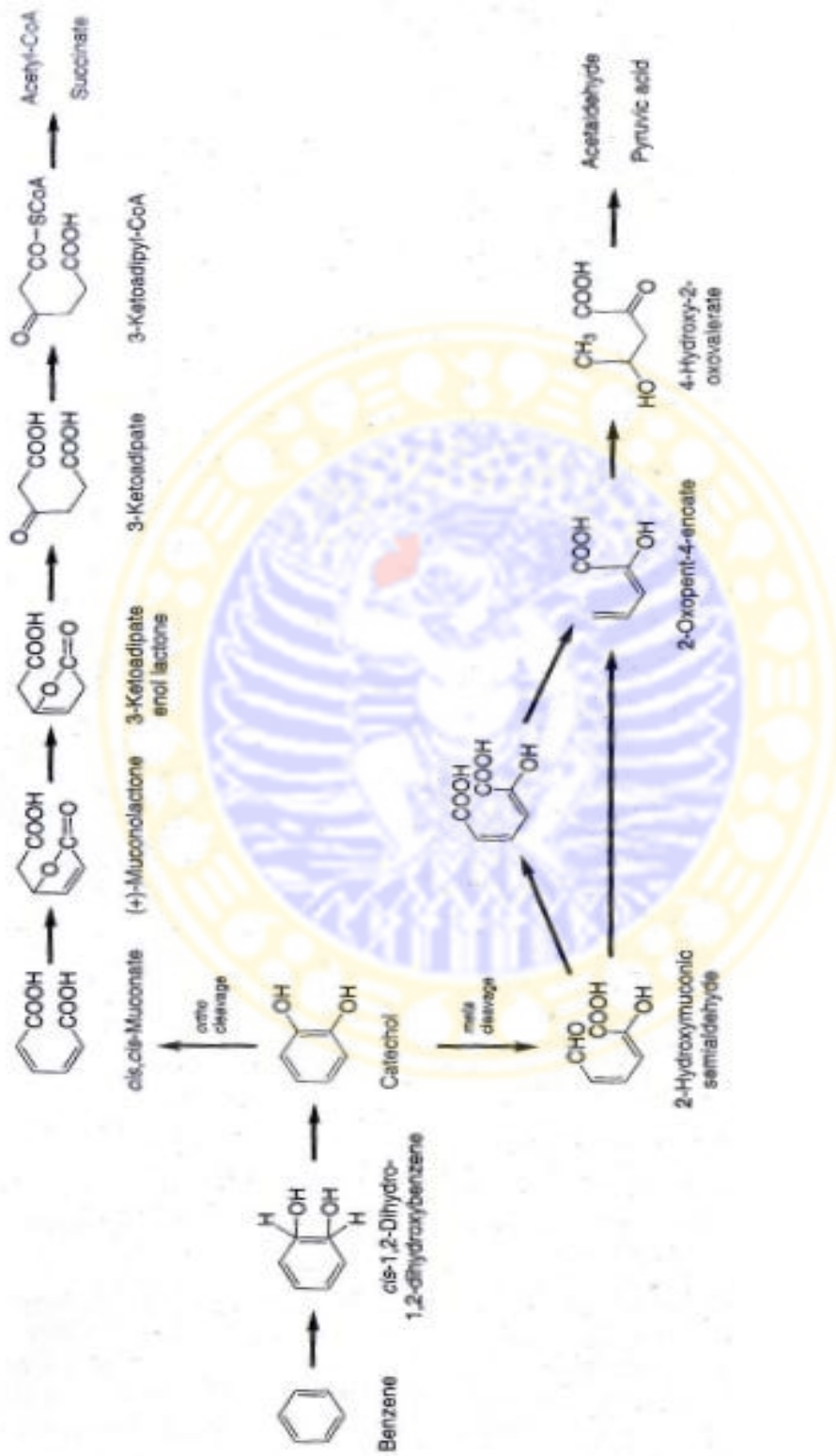
Berdasarkan jenis senyawa hidrokarbonnya, mekanisme degradasi dari senyawa hidrokarbon dapat diwakili pada gambar 1-3. Pada proses pendegradasian hidrokarbon alifatik, *n*-oktana dioksidasi oleh enzim monooksigenase atau sitokrom P450 menjadi *n*-oktanol. Kemudian *n*-oktanol dioksidasi lebih lanjut menjadi asam *n*-oktanoat yang pada akhirnya masuk pada siklus asam sitrat dalam bentuk *acetyl-coA* (gambar 1) (Prayekti, 2012). Aromatis monosiklik yaitu benzena, pertama dihidroksilasi oleh enzim dioksigenase menjadi *cis*-1,2-dihidroksi-1,2-dihidrobzena yang kemudian dikonversi menjadi katekol (gambar 2) (Scragg, 1999). Kemudian metabolisme katekol bisa melalui dua jalur yaitu pembelahan *ortho* menghasilkan *cis,cis*-mukonat dan pembelahan *meta* menghasilkan 2-hidroksimukonat semialdehid. Kedua jalur tersebut mengarahkan senyawa yang bisa masuk siklus Krebs (gambar 2). Dua tahap pertama dalam pendegradasian benzena tersebut umumnya juga untuk memecah hidrokarbon monosiklik dan polisiklik aromatik lainnya (gambar 3) (Scragg, 1999).

Pada umumnya hidroksilasi cincin aromatik diikuti oleh pemecahan cincin, dan kedua reaksi tersebut dikeluarkan oleh oksigenase (Fukuda, 1993 dalam Scragg, 1999). Penggabungan dua molekul oksigen menyebabkan pengenalan dua gugus hidroksil

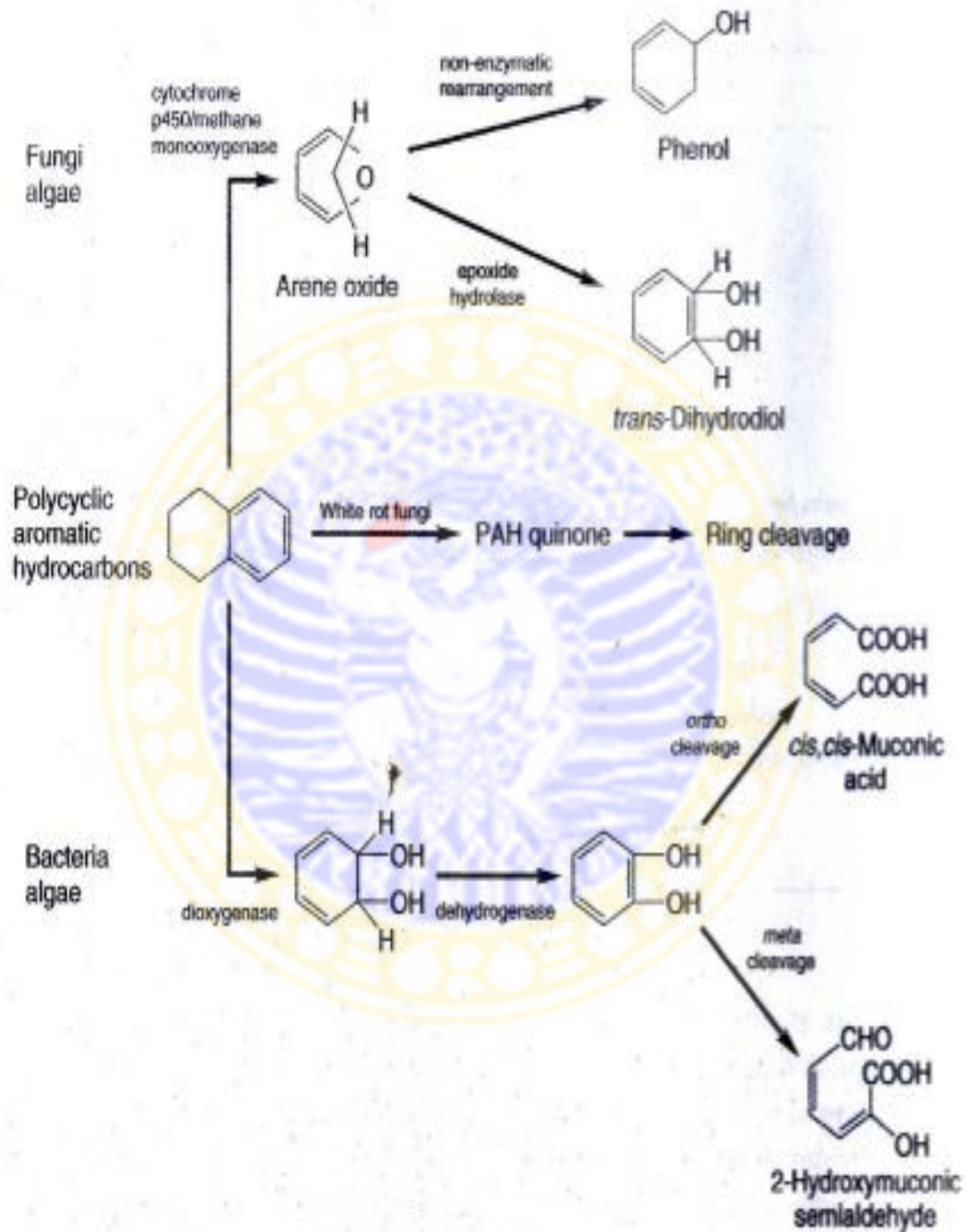
yang bisa melalui baik pembelahan *meta* atau *ortho*. Penggabungan molekul oksigen tunggal dikatalis oleh monooksigenase, dan kedua sistem enzim tersebut dapat digunakan untuk mendegradasi hidrokarbon polisiklik aromatik (Scragg, 1999).



Gambar 1. Tahapan dalam oksidasi dari senyawa hidrokarbon alifatik. Sumber: (Madigan, *et al.*, 2003)



Gambar 2. Jalur degradasi *benzene*, baik melalui jalur pembelahan *orto* maupun *meta*. Sumber: (Scragg, 1999)



Gambar 3. Tahapan dalam degradasi hidrokarbon polisiklik aromatik oleh fungi, bakteri, dan alga. Sumber: (Scragg, 1999)

2.3 Konsorsium Mikroba

Susunan senyawa minyak bumi yang kompleks, menyebabkan suatu spesies tunggal mikroba tidak dapat mendegradasi keseluruhan komponen penyusun minyak bumi tersebut, karena setiap spesies mikroba membutuhkan substrat yang spesifik. Beberapa mikroba yang berinteraksi saling menguntungkan dalam bentuk konsorsium sangat berperan selama berlangsungnya proses degradasi minyak bumi (Nugroho, 2007).

Suatu konsorsium mikroba pendegradasi minyak bumi lebih efektif dalam mendegradasi minyak bumi dibandingkan mikroba dalam bentuk kultur tunggal (Beraldo & Maria, 2009). Minyak bumi merupakan campuran yang kompleks dari senyawa-senyawa hidrokarbon, sedangkan tiap jenis mikroba memiliki enzim yang spesifik bekerja pada substrat tertentu sehingga memiliki kemampuan yang terbatas dalam mendegradasinya. Oleh karena itu setiap jenis bakteri secara bergantian mendominasi konsorsium sesuai dengan fraksi hidrokarbon yang mampu dimanfaatkannya (Nugroho, 2007).

2.4 Lumpur Minyak (*Oil Sludge*)

Limbah *oil sludge* merupakan limbah akhir dari serangkaian proses dalam industri pengilangan minyak bumi. Kegiatan operasinya dimulai dari eksplorasi, produksi (pengolahan sampai pemurnian) sampai penimbunan dan berpotensi menghasilkan limbah berupa lumpur minyak bumi (*oil sludge*) (Rossiana, *et al.*, 2007).

Industri kilang minyak di Indonesia yaitu Unit Pengolahan (UP) I Pangkalan Brandan dengan kapasitas 5.000 barrel/hari, UP II Dumai dan Sungai Pakning dengan kapasitas 170.000 barrel/hari, UP III Plaju dan Sungai Gerong dengan kapasitas 135.000 barrel/hari, UP IV Cilacap dengan kapasitas 348.000 barrel/hari, UP V Balikpapan dengan kapasitas 270.000 barrel/hari, UP VI Balongan dengan kapasitas 125.000 barrel/hari, dan UP VII Kasim Irian Jaya dengan kapasitas 10.000 barrel/hari (Susilo, 2006). Lumpur minyak (*oil sludge*) dari industri minyak telah mencapai 2000 ton per hari (Helmy, *et al.*, 2010).

Konstituen dari lumpur minyak (*oil sludge*) bersifat karsinogenik dan berpotensi imunotoksikan (Panda, *et al.*, 2013). Lumpur minyak mengandung total karbon organik 391 g/kg dan total petroleum hidrokarbon 281 g/kg, beberapa unsur logam (As, Cd, Cr, Hg, Pb, Zn, Ni, Cu) dan 20% BTEXs (*benzene, toluene, ethylbenzene, xylene*). Lumpur minyak memiliki karakteristik yang berbeda-beda pada setiap daerah (Marin, *et al.*, 2005). Variasi kandungan hidrokarbon di berbagai tempat dirangkum dalam tabel 2.4 berikut.

Tabel 2.4. *Total Petroleum Hydrokarbon (TPH) pada oil sludge di beberapa tempat pengilangan minyak. Sumber: (Ward, et al., 2003)*

Lokasi kilang minyak	TPH <i>oil sludge</i> (%)	Fraksi hidrokarbon total (% dari total)			
		Rantai jenuh	Aromatik	Resin	Aspaltin
Ontario (A)	18.8	49.6	32.7	10.3	7.4
Ontario (B)	15.8	42.0	42.0	6.9	9.1
Ontario (C)	13.2	44.9	40.4	7.1	7.6
<i>Quebec</i>	9.3	48.7	25.6	10.2	15.5

Tabel 2.4. *Total Petroleum Hydrokarbon (TPH) pada oil sludge di beberapa tempat pengilangan minyak. Sumber: (Ward, et al., 2003). (lanjutan halaman sebelumnya)*

Lokasi kilang minyak	TPH <i>oil sludge</i> (%)	Fraksi hidrokarbon total (% dari total)			
		Rantai jenuh	Aromatik	Resin	Aspaltin
Kanada bagian barat	20.2	21.2	47.8	9.6	21.4
Kanada bagian timur	20.9	46.4	33.5	10.8	9.3
Amerika bagian barat	17.1	45.4	37.8	3.9	12.9
Amerika bagian timur	15.5	44.3	43.7	6.7	5.4
Amerika latin (A)	15.1	51.3	18.9	14.9	14.9
Amerika latin (B)	21.3	41.2	35.6	9.7	13.5
Asia Tenggara	33.7	44.7	40.8	6.5	8.0
Asia Tengah	8.3	38.3	45.5	6.9	9.3

Lumpur minyak (*oil sludge*) mengandung total karbon organik berasal dari hidrokarbon minyak bumi. Hidrokarbon dari minyak bumi mengandung campuran kompleks dari senyawa yang dapat dikategorikan menjadi empat fraksi. Fraksi alkana terdiri atas alkana rantai lurus, alkana bercabang (isoalkana) dan sikloalkana (*Naphthenes*). Fraksi aromatik terdiri atas: hidrokarbon monoaromatik yang mudah menguap (*volatile*) misalnya benzena, toluena, xilen, dan lain-lain, hidrokarbon poliaromatik (PAH), *naphthoaromatics*, dan senyawa sulfur aromatik misalnya *thiopenes* dan *dibenzothiophenes*. Fraksi resin (N, S, O) dan *aspaltene* terdiri atas molekul polar yang mengandung nitrogen, sulfur, dan oksigen. Resin merupakan

padatan *amorphous* yang terlarut dalam minyak, sedangkan aspalten memiliki molekul yang besar dan tersebar membentuk koloid dalam minyak (Balba, *et al.*, 1998).

Dalam Peraturan Pemerintah No. 85 Tahun 1999 disebutkan bahwa industri pengilangan minyak dan gas bumi menghasilkan limbah bahan berbahaya dan beracun. Salah satu limbahnya yaitu *oil sludge* atau yang dikenal dengan lumpur minyak. Sesuai dengan Peraturan Pemerintah No. 85 tahun 1999 tentang pengelolaan Limbah Bahan Berbahaya dan Beracun (B3), bahwa limbah lumpur minyak termasuk ke dalam daftar limbah B3 dari sumber spesifik dengan kode kegiatan 2320, maka pengelolaannya diperlukan penanganan secara baik sehingga tidak mencemari lingkungan (BAPEDAL, 2001).

2.5 Analisis Parameter Degradasi

Keberhasilan proses biodegradasi *oil sludge* dapat diketahui dengan beberapa indikator, yaitu jumlah total bakteri (CFU/mL) dan persentase degradasi *oil sludge* (%).

2.6.1 Total Plate Count (TPC)

Total Plate Count merupakan sebuah prosedur untuk mengestimasi jumlah mikroba yang dapat hidup (*viable*) pada suatu sampel. Hasil perhitungan dinyatakan dalam *Colony Forming Unit* (CFU/mL) (Ibuot & Bajhaiya, 2013).

2.6.2 Analisis gravimetri

Gravimetri adalah teknik analisis yang didasarkan pada pengukuran massa (Chang, 2002). Metode gravimetri dapat digunakan untuk mengetahui kandungan hidrokarbon, kandungan air, dan kandungan abu dalam sampel. Pelarut organik yang

mampu melarutkan minyak diperlukan untuk analisa minyak dalam *oil sludge*. Jenis pelarut organik yang digunakan diantaranya petroleum eter, heksana, metilen klorida dan kloroform. Ekstraksi dapat dilakukan dalam labu pemisah (*separating funnel*) atau menggunakan *sokhlet apparatus* (Panda *et al.*, 2013; Latha and Kalaivani, 2012).

2.6.3 Perubahan *potential Hydrogen* (pH)

Potensial hidrogen (pH) didefinisikan sebagai negatif logaritma dari konsentrasi ion hidrogen (mol/L) (Chang, 2002). pH adalah singkatan dari *Pondus hydrogenii* dan berarti berat hidrogen. Skala pH mencakup konsentrasi aktif dari ion H^+ dan ion OH^- dan karena itu nilai pH didefinisikan sebagai logaritma negatif dari konsentrasi ion hidrogen aktif dalam larutan cair (Springer, 2006). Tingkat keasaman (pH) medium merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi laju pertumbuhan mikroba (Scragg, 1999).