

## PENGARUH PENAMBAHAN $Mn^{2+}$ DAN $Mg^{2+}$ PADA MEDIA *STONE MINERAL SALT SOLUTION EXTRACT YEAST (SMSSe)* TERHADAP KINERJA ISOLAT BAKTERI DM-5

Nida Sopiah<sup>1</sup>, La Ode Sumarlin<sup>2</sup>, S. Hermanto<sup>2</sup>, Zakki R. Mubarak<sup>2</sup>

(Diterima tanggal 15-11-2011; Disetujui tanggal 14-03-2012)

### ABSTRAK

Bioremediasi adalah salah satu upaya untuk mengurangi pencemaran minyak bumi dengan memanfaatkan mikroorganisme. Mikroorganisme yang digunakan dalam penelitian ini adalah Isolat bakteri hidrokarbonoklastik DM-5. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh logam  $Mn^{2+}$  dan  $Mg^{2+}$  terhadap aktivitas bakteri yang dapat meningkatkan laju biodegradasi yang dilihat dari penurunan pH, kadar minyak bumi tersisa metode gravimetri, dan senyawa penyusun minyak bumi hasil biodegradasi (GCMS). Media yang digunakan adalah *Stone Mineral Salt Solution Extract Yeast (SMSSe)* dengan variasi konsentrasi ion logam  $Mn^{2+}$  (1, 5, 10 ppm) dan  $Mg^{2+}$  (100, 150, 200 ppm). Perlakuan terbaik untuk penambahan ion mangan adalah pada media Mn-2 dengan persentase degradasi sebesar 90,54% dengan pH akhir sebesar 5,63 sedangkan media Mn-1 dan Mn-3 sebesar 85,26 % dan 86,42% dengan pH akhir sebesar 5,98 dan 5,76. Perlakuan terbaik untuk penambahan ion magnesium adalah pada media Mg-1 dengan persentase degradasi sebesar 69,37% dengan pH akhir sebesar 6,08 sedangkan media Mg-2 dan Mg-3 sebesar 36,52% dan 28,73% dengan pH akhir sebesar 6,35 dan 6,52.

**Kata kunci** : kofaktor, bioremediasi, minyak bumi, laju biodegradasi, bakteri hidrokarbonoklastik.

### ABSTRACT

Bioremediation is one of the efforts to reduce petroleum pollution using microorganisms. Microorganisms used in this research is isolate the hydrocarbonoclastic bacteria DM-5 form a consortium. The purpose of this research was to determine the influence of metal  $Mg^{2+}$  and  $Mn^{2+}$  on the activity of bacteria that can increase the rate of biodegradation is seen from the decrease in pH, levels of petroleum remaining gravimetric method, and the constituent compounds of petroleum biodegradation results by GCMS. The medium used is the Mineral Stone Salt Yeast Extract Solution (SMSSe) with variation the concentration of  $Mg^{2+}$  ions (100, 150, 200 ppm) and  $Mn^{2+}$  (1, 5, 10 ppm). The best treatment for the addition of manganese ions are on Mn-2 medium with the percentage degradation is 90,54% and the final pH is 5,63, while the Mn-1 and Mn-3 medium are 85,26% and 86,42% with final pH are 5,98 and 5,76. The best treatment for the addition of magnesium ions is in the Mg-1 medium with the percentage degradation is 69,37% and the final pH is 6,08 while Mg-2 and Mg-3 medium are 36,52% and 28,73% with the final pH are 6,35 and 6,52.

**Keywords** : cofactor, bioremediation, petroleum, rate of biodegradation hydrocarbonoclastic bacteria.

### PENDAHULUAN

Minyak bumi adalah hasil alam yang hingga saat ini masih dieksploitasi sebagai sumber energi bahan bakar dan listrik sehingga lingkungan disekitar pengeboran minyak sangat mudah terkontaminasi<sup>11)</sup>. Pemulihan lingkungan yang tercemar ini memerlukan biaya yang sangat tinggi untuk pengangkutan

dan pengadaan energi guna memulihkan materi yang tercemar seperti pembakaran (insinerasi) ataupun perlakuan kimia. Kelemahan teknik ini dapat membahayakan lingkungan beserta ekosistemnya. Salah satu alternatif pengolahan minyak tercemar yang aman adalah dengan memanfaatkan

<sup>1</sup> Balai Teknologi Lingkungan BPPT, Gedung 412 Kawasan Puspiptek Serpong 15314. Telp 021-7560919/7563116

<sup>2</sup> UIN Syarif Hidayatullah Jakarta

bioteknologi berupa teknik bioremediasi. Keunggulan teknik bioremediasi ini adalah menghilangkan kontaminan dengan biaya murah tanpa merusak materi terkontaminasi sehingga aman bagi lingkungan<sup>(11)</sup>.

Pengelolaan lingkungan dengan teknik bioremediasi pada lahan yang tercemar minyak bumi seperti *landfarming*, *biopile*, dan lainnya membutuhkan waktu yang relatif lama dalam proses biodegradasi. Sehingga dibutuhkan suatu teknik biostimulasi (skala laboratorium) Sebelum suatu teknik bioremediasi diaplikasikan, polutan yang akan didegradasi dan potensi mikroorganismenya harus sudah diketahui, untuk itu sebelumnya perlu dilakukan pengujian yang terkait dengan laju biodegradasi pada suatu fungsi lingkungan tertentu. Untuk meningkatkan laju biodegradasi salah satunya diperlukan nutrisi tanah (C, N, P dan logam sebagai nutrisi dan kofaktor) yang dapat meningkatkan aktivitas mikroorganismenya dalam mendegradasi minyak bumi<sup>(6),(10)</sup>. Kofaktor umum yang biasanya digunakan oleh mikroorganismenya yaitu magnesium, kalsium, kobalt, tembaga, mangan, besi dan seng<sup>(11)</sup> Pada awal skrining ini dipilih dua ion logam yakni magnesium dan mangan karena memiliki kandungan yang cukup besar di dalam sampel tanah. Selain itu, ion mangan berfungsi sebagai akseptor elektron yang digunakan ketika ketersediaan oksigen berkurang pada saat proses biodegradasi berlangsung<sup>(6),(11)</sup> sedangkan magnesium untuk mempercepat keluarnya enzim ekstra-seluler seperti lipase yang dapat membantu enzim monooksigenase dalam proses biodegradasi hidrokarbon<sup>(2)</sup>. Media *Stone Mineral Salt Solution Extract Yeast* (SMSSE) digunakan karena media ini

sangat cocok bagi mikroorganismenya jenis hidrokarbon- klastik yang menghasilkan biosurfaktan dan biosolven.<sup>(14)</sup> Namun aktivitas mikroorganismenya ini bergantung pada jumlah kandungan dan keseimbangan nutrisi yang ada

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan kofaktor Mg dan Mn terhadap aktivitas bakteri DM-5 dalam mendegradasi minyak bumi.

## METODOLOGI

Kegiatan penelitian ini dilakukan di Balai Teknologi Lingkungan Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BTL – BPPT), berlokasi di Kawasan Puspiptek Serpong, Tangerang Selatan Banten.

### Alat dan Bahan.

Dalam penelitian ini digunakan pH meter, spektrofotometer UV-Vis *Jasco V-530*, Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) *Shimadzu AA-6800F*, sedangkan bahan berupa media Nutrien Agar (NA), Nutrient Broth (NB), dan *Stone Mineral Salt Solution Extract Yeast* (SMSSE), Isolat bakteri DM-5 berasal dari bongkaran bioremediasi *drilling mud*, HCl p.a, HNO<sub>3</sub> p.a, aquades, alkohol 70%, spiritus, dan aluminium foil, n-heksan p.a, larutan standar ion logam Mg dan Mn 1000 ppm.

### Sterilisasi Alat dan Media.

Alat-alat yang digunakan dibersihkan dan Media NA, NB, serta SMSSE yang telah dibuat lalu disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 2 atm selama 15 menit. Peralatan yang tidak tahan panas dapat disterilkan dengan menggunakan alkohol 70%.

### **Sampling dan Preparasi Tanah.**

Sampling tanah dilakukan dengan mengambil sejumlah sampel tanah tercemar minyak bumi yang telah mengalami proses remediasi.

Sampel tanah ini dikeringanginkan kemudian dipisahkan dari kerikil dan kotoran lainnya. Sampel tanah ditumbuk pada lumpang porselen dan diayak dengan ayakan dengan ukuran lubang < 0,5 mm.

### **Destruksi Tanah dengan Metode Pengabuan Basah.**

Sebanyak 0,5 g sampel tanah ukuran < 0,5 mm ditimbang dan masukkan ke dalam labu Erlenmeyer 250 mL. Lalu ditambahkan 5 mL  $HNO_3$  p.a dan 0,5 mL  $HCl$  p.a. dan dibiarkan semalam. Setelah itu dipanaskan dengan suhu  $100^{\circ}C$  selama satu jam. Suhu ditingkatkan lagi menjadi  $150^{\circ}C$ . Setelah uap kuning habis, suhu ditingkatkan lagi menjadi  $200^{\circ}C$ . Destruksi selesai setelah keluar asap putih dan sisa ekstrak kurang lebih 0,5 mL. Labu Erlenmeyer diangkat dan dibiarkan dingin. Ekstrak diencerkan dengan aquades hingga volume tepat 50 mL dan dikocok hingga homogen<sup>8)</sup>.

### **Analisis Kofaktor Tanah.**

Ekstrak tanah dianalisa dengan menggunakan SSA, kemudian dihitung kadar  $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$  Perhitungan konsentrasi masing-masing kofaktor dilakukan dengan memasukkan nilai absorbansi logam tersebut pada masing-masing persamaan regresi linear.

### **Peremajaan Isolat dan Pembuatan Laju Pertumbuhan Isolat Bakteri DM-5.**

Sebanyak 100 mL media *Nutrient Broth*

(NB) dimasukkan ke dalam 2 buah labu Erlenmeyer 250 mL. Sterilisasi media pada suhu  $120^{\circ}C$  dan tekanan 2 atm dalam autoklaf selama 15 menit. Inokulasi dilakukan dengan mengambil sebanyak 1 ose secara aseptik ke dalam kedua media tersebut. Pertumbuhan isolat bakteri DM-5 diamati setiap 1 jam sekali menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 620 nm. Selain itu pertumbuhanpun diamati dengan menghitung *Total plate Count* (TPC)

### **Uji Pengaruh Kofaktor terhadap Aktivitas Bakteri DM-5 dalam Mendegradasi Minyak Bumi.**

Sebanyak 1 mL isolat bakteri yang telah mencapai fase eksponensial dimasukan ke dalam medium SMSSe steril masing-masing 50 mL. Kemudian ditambahkan minyak Bumi 1% dan ditambahkan masing-masing logam  $Mn^{2+}$  (1 ppm, 5 ppm, 10 ppm) dan logam  $Mg^{2+}$  (100 ppm, 150 ppm, 200 ppm) ke dalam labu Erlenmeyer yang berbeda. Berikut adalah pemberian kode untuk masing masing perlakuan,

SMSSe blanko : Minyak Bumi 1%.

SMSSe Kontrol : Minyak Bumi 1%+ Isolat.

Mg-1: Minyak Bumi 1%+ Isolat+Mg 100 ppm.

Mg-2 Minyak Bumi 1%+ Isolat + Mg 150 ppm.

Mg-3:Minyak Bumi 1%+ Isolat+ Mg 200 ppm.

Mn-1:Minyak Bumi 1%+ Isolat+ Mn 1 ppm.

Mn-2:Minyak Bumi 1%+ Isolat+ Mn 5 ppm.

Mn-3:Minyak Bumi 1%+ Isolat+ Mn 10 ppm.

Pengukuran pH media dilakukan setiap hari menggunakan pH meter. Analisis kadar minyak bumi dilakukan setiap 7 hari secara gravimetri.

### Analisis Kadar Minyak Bumi secara Gravimetri.

Labu Erlenmeyer yang berisi medium SMSSe yang telah mengalami perlakuan dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan 60 mL n-heksan p.a. Kemudian dikocok selama  $\pm 15$  menit lalu didiamkan sampai n-heksan terpisah. Terdapat 2 fasa yaitu fasa air serta fasa campuran n-heksan dengan minyak bumi. Kemudian lapisan air dipisahkan dari campuran tersebut sedangkan lapisan minyak bumi yang terekstrak dalam n-heksan ditampung dalam labu 100 mL. (telah diketahui bobotnya) melalui proses filtrasi menggunakan kertas saring yang telah ditambahkan  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  sekitar 0,5 gram. Labu tersebut selanjutnya didestilasi sampai diperoleh ekstrak berupa residu minyak. Labu tersebut diangkat dan dimasukkan dalam eksikator sampai mencapai suhu kamar, lalu ditimbang dan dicatat bobotnya. Prosedur

yang sama dilakukan juga terhadap medium SMSSe kontrol dan blanko

Perhitungan kadar minyak bumi dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kadar minyak (g)} = (W2 - W1)$$

Keterangan:

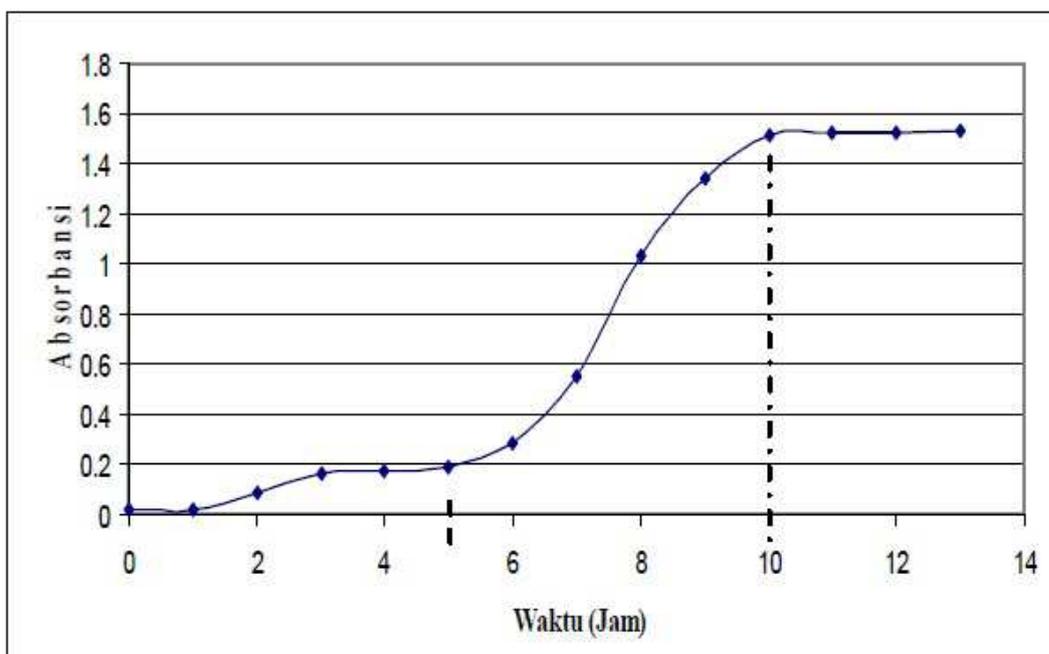
W1 = berat gelas kimia kering (g)

W2 = berat gelas kimia dengan kadar minyak yang diperoleh (g)

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Bakteri hidrokarbonoklastik Isolat bakteri DM-5. Sebelum ditambahkan ke media pertumbuhan, Isolat bakteri tersebut diremajakan terlebih dahulu pada media *nutrient agar* (NA) untuk mendapatkan bakteri yang aktif

Laju pertumbuhan bakteri dilakukan untuk mengetahui grafik pertumbuhan bakteri, sehingga diperoleh kecepatan biak (*generation time*) dari koloni bakteri tersebut.



Gambar 1. Kurva Pertumbuhan Isolat Bakteri DM-5

Dari grafik tersebut menunjukkan bahwa fase adaptasi terjadi pada jam ke-0 hingga jam ke-5 yang dapat dilihat dari kenaikan nilai absorbansi yang lambat. (fase lag). Populasi Isolat bakteri DM-5 pada fase ini mencapai 1,883 10<sup>9</sup> sel/mL. Pada jam ke-6 hingga jam ke-10, pertumbuhan isolat bakteri DM-5 mengalami kenaikan nilai absorbansi yang cukup tinggi. Hal ini disebabkan tingginya aktivitas dan bertambahnya jumlah populasi Isolat bakteri DM-5 (2,67 10<sup>9</sup> - 1,6 10<sup>12</sup> sel/mL) yang dapat dilihat dari kekeruhan pada media dan nilai TPC yang semakin tinggi (fase eksponensial). Terdapat hubungan linear antara absorbansi dengan populasi isolat bakteri dimana cahaya yang melewati suspensi larutan akan diserap oleh sel-sel bakteri dan akan terbaca oleh alat.<sup>(7)</sup> Dengan kata lain semakin besar nilai absorbansi larutan maka jumlah isolat pun bertambah yang terbukti dengan larutan yang semakin keruh dan nilai TPC semakin besar. Pada jam ke-11 dan ke-13 terjadi fase stationer dimana kenaikan nilai

absorbansi terjadi secara perlahan dan hampir sama (1,5238-1,5343) yang menyatakan bahwa jumlah sel yang tumbuh hampir sama dengan jumlah sel sel yang mati

**Analisa Kofaktor Tanah.**

Telah diketahui bahwa dalam tanah terdapat beberapa logam (dalam bentuk ionnya) yang berpotensi sebagai kofaktor antara lain : Fe<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, dan Zn<sup>2+</sup><sup>16)</sup>. Sebagai langkah awal untuk mengetahui kofaktor yang berpengaruh dalam mempercepat proses biodegradasi dilakukan analisis terhadap tanah yang tercemar minyak bumi menggunakan Spektroskopi Serapan Atom, untuk mengetahui komponen logam yang bertindak sebagai kofaktor.

Hasil analisis menunjukkan bahwa kadar Cu<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, dan Zn<sup>2+</sup> di dalam sampel tanah paling rendah, sedangkan kadar Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup> dan Mn<sup>2+</sup> mempunyai kandungan yang cukup tinggi.

**Tabel 2.** Kandungan Ion Logam pada Sampel Tanah

No	Nama Logam	Konsentrasi dalam Tanah, mg/kg
1	Kalsium (Ca)	17.02
2	Magnesium (Mg)	52.62
3	Mangan (Mn)	8.365
4	Zink (Zn)	0.58
5	Kobal (Co)	> 0.001
6	Tembaga (Cu)	> 0.001

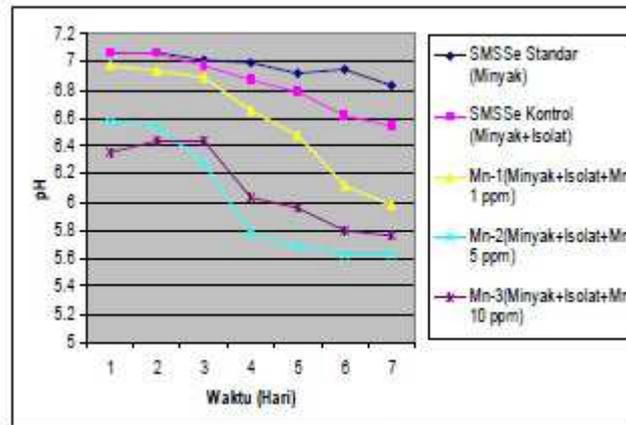
**Pengaruh Penambahan Ion Logam Mn<sup>2+</sup> dan Mg<sup>2+</sup> terhadap Perubahan pH Media SMSSe.**

Pengaruh penambahan ion logam Mg<sup>2+</sup> dan Mn<sup>2+</sup> pada media mempunyai fungsi yang berbeda dalam proses metabolisme bakteri. Ion logam Mn<sup>2+</sup> berfungsi sebagai akseptor elektron yang pada akhirnya akan mempertahankan jumlah bakteri hidrokarbonoklastik <sup>(1)</sup>, sedangkan ion logam Mg<sup>2+</sup> berfungsi sebagai stimulus yang dapat menstimulasi keluarnya enzim ekstraseluler seperti enzim lipase <sup>(1)</sup> sehingga diharapkan kedua logam ini dapat berpengaruh terhadap laju biodegrasi minyak bumi.

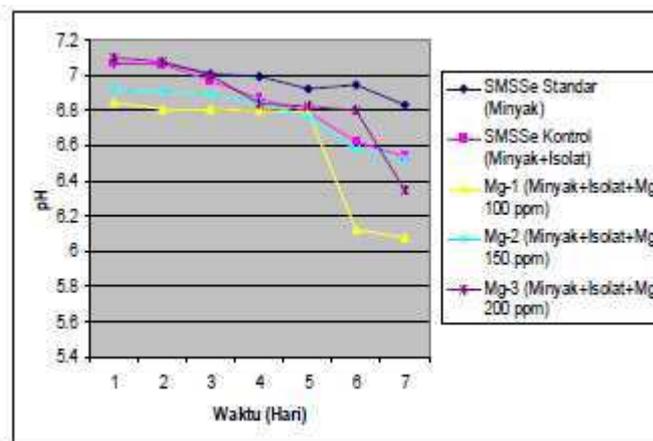
Dari hasil penelitian menunjukkan pengaruh penambahan ion logam Mn<sup>2+</sup> dan Mg<sup>2+</sup>

mempengaruhi perubahan pH. Besarnya penurunan pH berbeda-beda bergantung pada besarnya persentase biodegradasi. Penurunan pH berbeda-beda pada masing-masing media perlakuan dengan penambahan ion mangan yang tersaji pada gambar 2.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penurunan pH terbesar ada pada media Mn-2 (6,57-5,63) sedangkan penurunan pH terkecil ada pada media Mn-1 (6,97-5,98), SMSSe kontrol (7,07-6,54) dan SMSSe standar (7,07-6,83). Sedangkan pada media dengan penambahan ion magnesium penurunan pH tidak terlalu tinggi seperti kontrol media dengan penambahan ion mangan yang dapat dilihat pada gambar Gambar 3.



Gambar 2. Pengaruh penambahan Mn<sup>2+</sup> terhadap perubahan pH



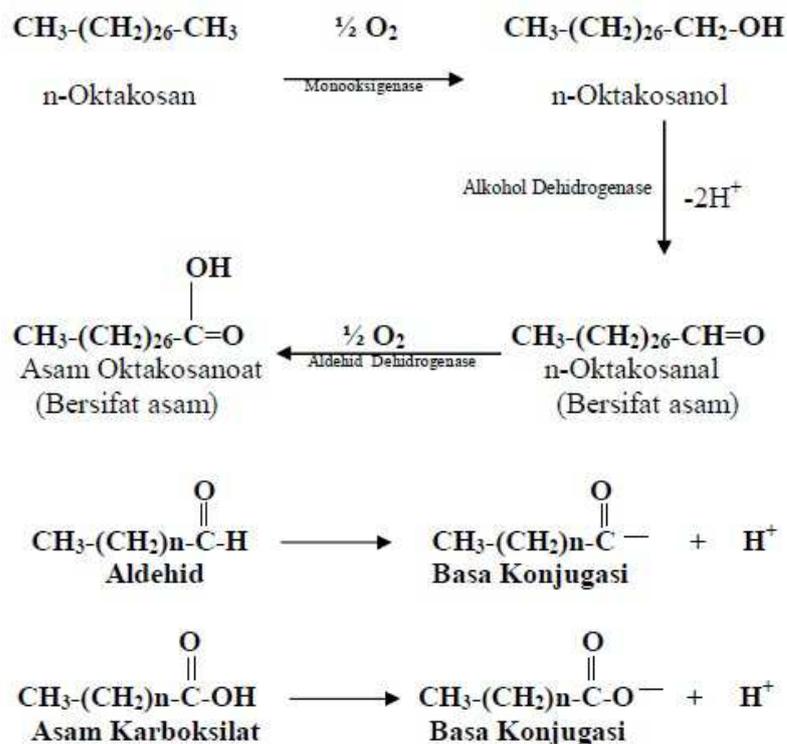
Gambar 3. Pengaruh penambahan Mg<sup>2+</sup> terhadap perubahan pH

Berdasarkan Gambar 3 menunjukkan penurunan pH yang signifikan yang terjadi pada hari ke-6 dan ke-7. Media dengan penurunan pH terbesar adalah media Mg-1 (dari 6,85 menjadi 6,08), sedangkan penurunan pH terkecil adalah media Mg-3 (dari 6,92 menjadi 6,52). Jika dibandingkan dengan kontrol, penurunan pH yang terjadi hampir sama dengan media Mg-3 (7,07-6,54). Penurunan pH yang relatif tinggi pada media Mn-2 dan Mg-1 ini menandakan bahwa pada media ini terjadi peningkatan aktivitas Isolat bakteri DM-5 dalam mendegradasi minyak bumi sehingga asam-asam organik dan asam lemak yang dihasilkanpun semakin bertambah. Asam lemak dan asam-asam organik ini akan mengalami reaksi ionisasi menghasilkan H<sup>+</sup> dan basa konjugasi. Semakin tinggi konsentrasi H<sup>+</sup> yang dihasilkan dari metabolit asam tersebut maka semakin turun nilai pH

media SMSSe. Sehingga dapat dikatakan pada media Mn-2 dan Mg-1 memiliki konsentrasi H<sup>+</sup> yang lebih tinggi dibandingkan media perlakuan lainnya.

Dalam proses biodegradasi alkana seperti oktakosan (C<sub>28</sub>H<sub>58</sub>) akan teroksidasi pada gugus metil terminal membentuk alkohol primer dengan bantuan enzim monooksigenase. Alkohol akan dioksidasi lebih lanjut menjadi aldehida, kemudian asam organik dan akhirnya dihasilkan asam lemak. Asam organik dan asam lemak inilah yang pada akhirnya akan menurunkan pH media. Reaksi lengkap dapat dilihat pada gambar di bawah ini :

Metabolit-metabolit asam yang dihasilkan biasanya berupa senyawa aldehid dan asam karboksilat yang kemudian terionisasi dengan bantuan air yang terkandung dalam media pertumbuhan



Gambar 4. Reaksi Biodegradasi Alkana <sup>(2)</sup>

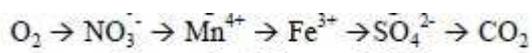
Jadi semakin banyak metabolit-metabolit asam yang dihasilkan maka konsentrasi H<sup>+</sup> dalam media akan semakin tinggi sehingga pH menurun. Sehingga dapat dikatakan bahwa konsentrasi H<sup>+</sup> pada media Mn-2 dan Mg-1 lebih tinggi jika dibandingkan dengan media Mn-1, Mn-3, Mg-2, Mg-3 SMSSe standar dan kontrol.

**Pengaruh Penambahan Ion Logam Mn<sup>2+</sup> dan Mg<sup>2+</sup> terhadap Perubahan Kadar Minyak Tersisa pada Media SM**

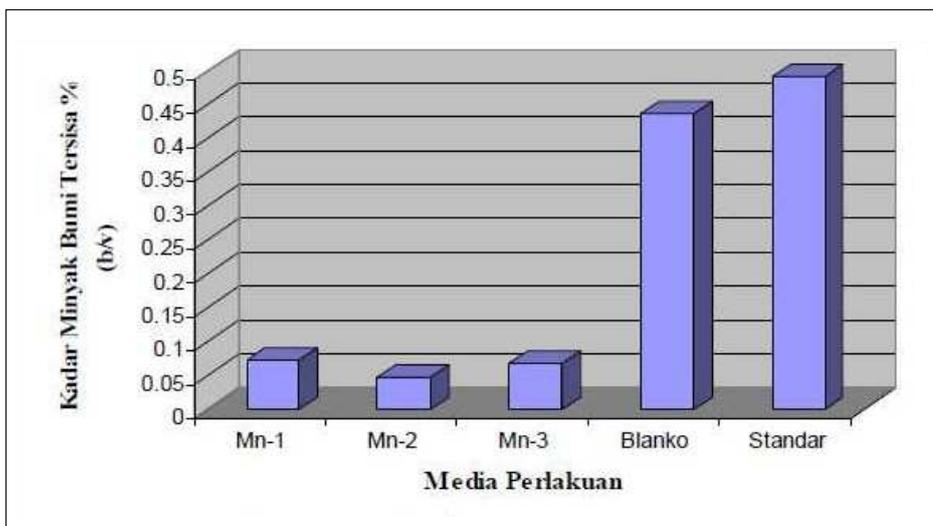
Selain perubahan pH, laju biodegradasi dapat pula ditunjukkan dari penurunan kadar minyak bumi tersisa. Pada media dengan penambahan ion mangan terlihat bahwa nilai kadar minyak bumi tersisa lebih rendah (media Mn-1= 0,0726%, media Mn-2 = 0,0466%, media Mn-3 = 0,0669%) (Gambar 15), jika dibandingkan dengan kontrol (0,4366%) dan standar (0,4926%).

Media dengan penambahan ion mangan dapat menurunkan pH dan minyak bumi tersisa lebih rendah yang berarti efisiensi biodegradasi meningkat jika dibandingkan

dengan media kontrol dan media standar. Hal ini disebabkan oleh ion mangan dalam proses biodegradasi akan digunakan sebagai akseptor elektron apabila ketersediaan oksigen berkurang. Dengan adanya NO<sub>3</sub> dari NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, Mn<sup>2+</sup> dari MnCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O yang teroksidasi menjadi Mn<sup>4+</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> dari MgSO<sub>4</sub> dalam media SMSSe maka kekurangan oksigen dalam proses biodegradasi dapat digantikan oleh akseptor elektron lainnya dengan urutan sebagai berikut<sup>15)</sup> :



Jadi dengan ditambahkan ion mangan pada media Mn-1, Mn-2, Mn-3 menyebabkan proses biodegradasi cenderung mempertahankan jumlah sel bakteri hidrokarbonoklastik yang sebagian besar membutuhkan oksigen (aerob). Sedangkan pada media SMSSe kontrol yang tidak ditambahkan ion mangan menyebabkan proses biodegradasi berlangsung lambat. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh jumlah sel bakteri hidrokarbonoklastik yang berkurang akibat kekurangan ketersediaan

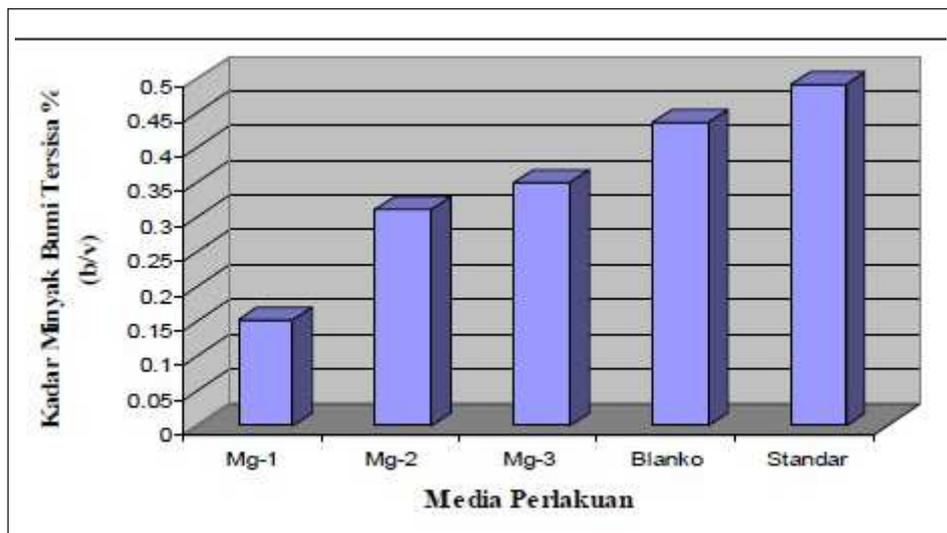


**Gambar 5.** Pengaruh Penambahan Mn<sup>2+</sup> terhadap Laju Biodegradasi

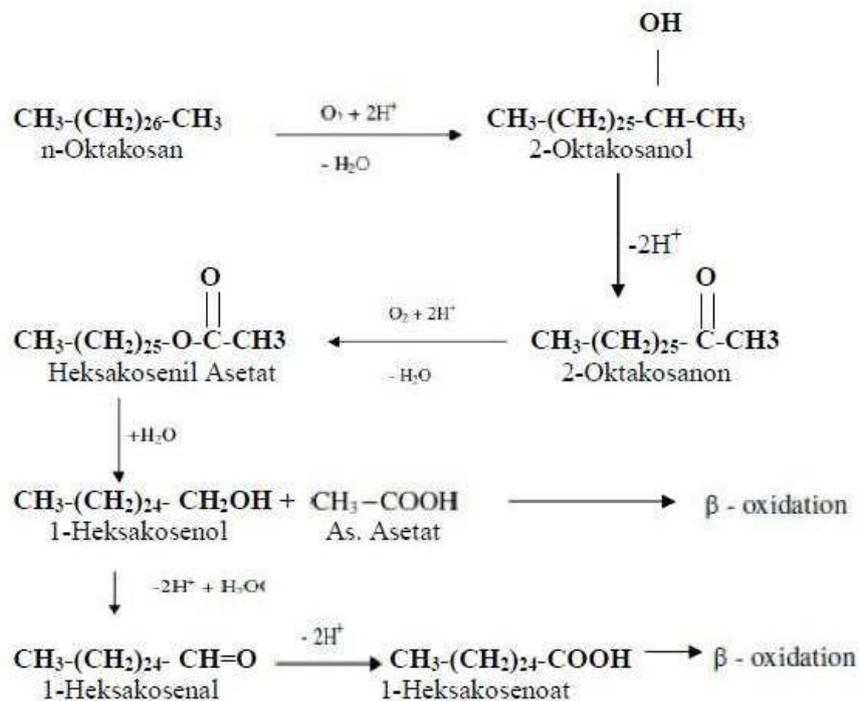
oksigen sehingga aktivitas bakteri menurun dan jumlah metabolit-metabolit asam yang dihasilkan juga akan menurun. Dari ketiga media yang ditambahkan ion mangan, media perlakuan terbaik ada pada media Mn-2 yang dapat dilihat dari penurunan pH dan persentase biodegradasi yang paling tinggi (90,54%) dibandingkan media Mn-1 (85,26%) dan Mn-3 (86,4%<sup>2</sup>). Hal ini kemungkinan disebabkan pada media Mn-1 dengan penambahan ion mangan 1 ppm hanya dapat mempertahankan jumlah bakteri dalam waktu yang singkat dan selanjutnya akseptor elektron akan bergeser ke arah anaerob. Dengan kata lain jumlah bakteri hidrokarbonoklastik akan menurun dan biodegradasi akan berjalan lambat. Sedangkan pada media Mn-3 dengan penambahan ion mangan 10 ppm terjadi kenaikan pH dan kadar minyak tersisa yang masih tinggi jika dibandingkan media Mn-2. Hal ini disebabkan oleh aktivitas bakteri DM-5 menurun akibat ion mangan dalam media terlalu besar. Bila jumlah ion logam melebihi kemampuan penggunaan mikroorganisme maka ion logam tersebut dapat bersifat

toksik sehingga akan mengganggu aktivitas mikroorganisme pada media.<sup>(11)</sup> Sedangkan dengan penambahan ion logam magnesium memiliki kadar minyak tersisa yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan media dengan penambahan ion mangan namun masih di bawah kadar minyak tersisa media SMSSe kontrol yang tersaji pada Gambar 6.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar minyak bumi tersisa yang terkecil ada pada media Mg-1 sebesar 0,1509% dengan persentase biodegradasi sebesar 69,37% sedangkan sisa minyak terbesar ada pada media media 3 sebesar 0,3511% dengan persentase biodegradasi sebesar 28,73%. Minyak tersisa pada media Mg-1 relatif lebih rendah jika dibandingkan dengan media Mg-2, Mg-3, dan SMSSe kontrol. Hal ini disebabkan oleh aktivitas Isolat bakteri DM-5 yang meningkat pada media Mg-1 dan diduga menghasilkan enzim lipase yang lebih banyak sehingga menyebabkan minyak bumi lebih cepat terdegradasi. Hal ini disebabkan oleh pada media dengan penambahan magnesium aktivitas bakteri pun meningkat karena ion



Gambar6. Pengaruh Mg<sup>2+</sup> terhadap Laju Biodegradasi Minyak Bumi



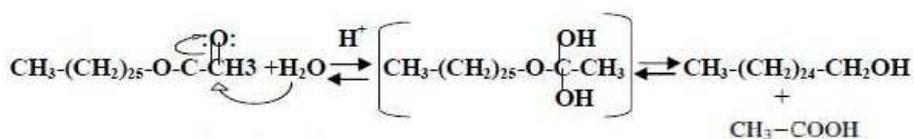
Gambar 7. Reaksi Biodegradasi alkana Jalur Sub terminal <sup>(2)</sup>

Mg dapat menstimulai pelepasan enzim ekstraseluler seperti lipase dari dinding sel (Aisaka & Terada, 1979). Lipase adalah enzim ekstraseluler yang dapat mengoksidasi senyawa lipid. Jadi semakin banyak jumlah enzim lipase maka akan membantu enzim monooksigenase yang aktif akibat adanya akseptor elektron seperti oksigen, NO<sub>3</sub>, Mn<sup>2+</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> dalam mendegradasi hidrokarbon. Biodegradasi dengan penggunaan enzim ekstraseluler ini melalui jalur sub terminal <sup>(12)</sup> yang dapat dilihat pada Gambar 7.

Biodegradasi alkana melalui jalur sub terminal dimana alkana seperti n-oktakosan yang mengalami oksidasi pada atom karbon terminal sekunder menjadi alkohol yang

selanjutnya mengalami dehidrogenasi membentuk senyawa keton (2- oktakosanon) yang selanjutnya dioksidasi menjadi senyawa ester. Ester yang telah terbentuk akan mengalami hidrolisis menjadi alkohol primer dimana oksigen karbonil dari suatu ester dapat diprotonkan sedangkan karbon yang bermuatan positif parsial, dapat diserang oleh nukleofil lemah seperti air, Gambar 8.

Alkohol primer yang terbentuk tersebut kemudian mengalami dehidrogenasi sehingga membentuk aldehid (1-Heksakosenal) dan selanjutnya menjadi asam karboksilat sehingga dapat menurunkan pH media karena bersifat asam. Penambahan ion magnesium pada media Mg-1 adalah media dengan



Gambar 8. Reaksi Hidrolisis ester menjadi alkohol primer <sup>(5)</sup>

aktivitas bakteri tertinggi yang dapat dilihat pada penurunan pH dan laju biodegradasi yang dapat dilihat dari kadar minyak yang tersisa. Namun pada media Mg-2 dan Mg-3, aktivitas Isolat bakteri DM-5 menurun sehingga laju biodegradasi berjalan lambat. Walaupun aktivitas bakteri menurun pada media Mg-2 dan Mg-3 jika dibandingkan dengan SMSSe kontrol dan standar, kedua media ini masih tergolong cepat karena nilai persentase biodegradasinya lebih tinggi (36,52% dan 28,73%) jika dibandingkan dengan SMSSe kontrol (11,37%).

### KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan mengenai pengaruh ion logam Mg<sup>2+</sup> dan Mn<sup>2+</sup> terhadap aktivitas enzim ekstraseluler bakteri karbonoklastik, maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

Perlakuan terbaik pada media dengan penambahan ion magnesium adalah media Mg-1 dengan penurunan pH sebesar dari 6,85 menjadi 6,08 dan kadar minyak tersisa sebesar 0.1509% (b/v) dengan persentase degradasi 69,37%.

Perlakuan terbaik pada media dengan penambahan ion mangan adalah media Mn-2 dengan penurunan pH sebesar dari 6,57 menjadi 5,63 dan kadar minyak tersisa sebesar 0.0466% (b/v) dengan persentase degradasi 90,54%.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada :

1. Balai Teknologi Lingkungan BPPT Serpong yang telah memberikan dukungan

berupa penggunaan sarana dan fasilitas laboratorium

2. Drs Dede Sukandar, M.Si yang telah memberikan masukan dan pengarahan. dalam penyusunan
3. Fuzi,S.Si, Susi, S.Si, Avi, S.Si Ibu Titin Rahayu, Bapak Herman serta rekan-rekan BTL yang telah memberikan motivasi dan dukungan selama penelitian ini berlangsung.

### DAFTAR PUSTAKA

- (1) Aisaka & Terada. 1979. Production of Lipoprotein Lipase and Lipase by *Rhizopus japonicus*. *Agricultural and Biological Chemistry*.43: .21-25.
- (2) Atlas, RM, & Bartha R. 1992. *Fundamentals and Applications*, Third Ed. *Microbial Ecology*. Redwood City .California. The Benjamin/Cumming Pub. Co., Inc
- (3) Atlas, RM, & Bartha R. 1981. *Microbiology Ecology, Fundamentals and Applications*. Addison Wesley Publishing Company, Inc.
- (4) Budiarti & Burhan. 2009. Karakterisasi Biomarka Hidrokarbon Alifatik dari Batubara Coklat (brown coal) Samarinda, Kalimantan Timur. *Prosiding Kimia FMIPA – ITS*. SK – 02.
- (5) Fessenden R.J & Fessenden J.S. 1982. *Kimia Organik*. Edisi Ketiga. Diterjemahkan oleh Aloysius Hadyana Pudjaatmaka Ph.D. Erlangga : Jakarta
- (6) Irianto, A. 2000. Bioremediasi In Vitro Tanah Tercemar Toluena dengan Penambahan *Bacillus Galur Lokal*. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia* Vol. 5 No. 2 : 43-47.

- (7) Jamilah. 2005. Potensi Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi pada Tanah Terkontaminasi Minyak Bumi dengan Penambahan Surfaktan. Bogor FMIPA- IPB.
- (8) Juknis Balai Penelitian Tanah. 2005. Analisis Kimia Tanah, Tanaman, Air, dan Pupuk. Bogor.
- (9) Kadarwati. 2009. Degradasi Hidrokarbon pada Tanah Tercemari Minyak Bumi dengan Isolat A10 dan D8. Departemen Kimia. FMIPA. Bogor
- (10) Madigan, Martlako, & Parker. 1997. Brock's Biology of Microorganisms. Ed. 8th. Englewood Cliffs:Prentice Hall.
- (11) Notodarmojo. 2005. Pencemaran Air dan Tanah. Bandung : ITB-Press.
- (12) Nugroho, A. 2009. Produksi Gas Hasil Biodegradasi Minyak Bumi : Kajian Awal Aplikasinya dalam Microbial Enhanced Oil Recovery (MEOR). Makara Sains Vol. 13 No. 2 : 111-116.
- (13) Nugroho, A. 2007. Dinamika Populasi Isolat Bakteri Hidrokarbonoklastik. Jurnal Ilmu Dasar. Vol.8 No.1 : F3-23.
- (14) Rani, D.S & Kadarwati S. 2009. Stone Mineral Salt Solution as a Potential Nutrient for Biosurfactant and Biosolvent Production on MEOR Application. LEMIG Research and Development Division for Program And Affiliation. Vol.32, No. 1.
- (15) Stumn & Morgan. 1970. Evaluation of bioremediation effectiveness on crude oil contaminated sand. ChemoSphere. 59 :845-852.