

**DEGRADASI (BENZENA) DENGAN PENAMBAHAN NITRAT
DAN BAKTERI DARI SEDIMEN PESISIR KARANGSONG
KABUPATEN INDRAMAYU**

Iklima Hasanah, Yudi Nurul Ihsan, Yeni Mulyani, Indah Riantini
Universitas Padjadjaran

Abstract

Until now still found contamination of oil spills due to community activities that perform loading and unloading of ships, one of them in coastal areas Karangsong. The purpose of this research is to get the potential of benzene degradation bacteria derived from coastal sediments of Karangsong and to gain the effect of nitrate addition in the process of benzene reduction. This research uses laboratory experimental method. Concentration of Benzene 0,05 mg/L and variation of nitrate concentration A: 0,2 mg/L, B: 0,3 mg/L, and C: 0,4 mg/L at sea water test medium with interval time observation hour 0, 6, 12, 24, and 48. The results of this study indicate that there is 1 pure gram negative bacteria with the form of bacilli from Karangsong coastal sediment, Indramayu Regency which has the ability to decrease the concentration of benzene C₆H₆ with the percentage of decrease ranged from 62,66% - 78,41% over 48 hours and a more effective concentration decrease was in treatment C that was 78,41% with the addition of NO₃ concentration of 0,4 mg/L.

Keywords: *Bacteria, benzene, concentration, degradation, nitrate*

PENDAHULUAN

Kabupaten Indramayu merupakan perairan yang dimanfaatkan untuk distribusi minyak mentah, kegiatan tersebut tidak terlepas dari kegiatan bongkar muat kapal minyak mentah yang mengakibatkan terjadinya tumpahan minyak disekitar perairan Indramayu. Minyak mentah yang tumpah ke perairan berdampak buruk bagi makhluk hidup atau biota laut, karena komponen minyak mentah tidak dapat larut di dalam air sehingga minyak akan mengapung di permukaan air dan permukaan air berwarna hitam.

Pencemaran Lingkungan Hidup menurut Peraturan Pemerintah Nomor : 27 Tahun 2014 adalah masuk atau dimasukkannya makhluk hidup, zat, energi dan/atau komponen lain ke dalam lingkungan hidup oleh kegiatan manusia sehingga melampaui baku mutu lingkungan hidup yang telah ditetapkan. Tingkat Pencemaran menjadi penting untuk diketahui agar pengelolaan kawasan tersebut lebih terencana serta meminimalisir dampak bencana. Lautan juga menerima bahan-bahan yang terbawa oleh air dari daerah pertanian dan limbah rumah tangga, sampah dan bahan buangan dari kapal, tumpahan minyak dari kapal tanker dan pengeboran minyak lepas pantai (Darmono 2001). Namun sumber utama pencemaran laut adalah berasal dari tumpahan minyak baik dari proses di kapal, pengeboran lepas pantai maupun akibat kecelakaan kapal (Sudrajat 2006).

Adanya pencemaran yang terjadi yang disebabkan oleh tumpahan minyak tersebut maka harus dilakukan pengukuran parameter seperti parameter fisika, kimia, dan biologi. Parameter biologi merupakan salah satu hal utama yang diteliti untuk mengetahui jenis bakteri yang dapat mendegradasi senyawa benzena di sedimen Pesisir Indramayu tersebut, salah satunya yaitu bakteri indigenous. Pemanfaatan bakteri untuk bioremediasi limbah mampu mencegah efek negatif limbah terhadap lingkungan yang merupakan habitat berbagai makhluk hidup (Oktavia, et al. 2012).

Untuk memaksimalkan proses biodegradasi dapat menggunakan senyawa hidrokarbon dalam membedakan kemampuan setiap bakteri. Biodegradasi senyawa hidrokarbon seperti minyak bumi biasanya membutuhkan kerja sama lebih dari satu spesies bakteri. Oleh karena itu, penting untuk dilakukan karakterisasi kemampuan suatu

bakteri dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon (Ghazali 2004).

Benzena merupakan salah satu komponen dalam bensin dan merupakan pelarut yang penting dalam dunia industri. Selain itu, benzena adalah kandungan alami dalam minyak bumi, namun biasanya diperoleh dari senyawa lainnya yang terdapat dalam minyak bumi. Benzena juga merupakan salah satu komponen dalam bensin tanpa timbal untuk meningkatkan nilai oktan bensin, oleh karena itu polusi udara yang disebabkan senyawa aromatik seperti benzena dalam bensin tanpa timbal meningkat (ATSDR 2007).

Biostimulasi adalah salah satu penggunaan nutrisi untuk memicu mikroba melakukan biodegradasi yang terdapat secara alami. Nitrat adalah senyawa yang paling sering ditemukan di dalam air bawah tanah maupun air yang terdapat di permukaan. Senyawa yang mengandung nitrat dimanfaatkan oleh makhluk hidup sebagai sumber nutrisi. Menurut Sears et al pada kondisi anaerob aktivitas reduksi nitrat dan aktivitas enzim NAP dua kali lebih tinggi dengan sumber karbon yang lebih teroksidasi dibandingkan dengan sumber karbon yang lebih tereduksi.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental di laboratorium. Pesisir Karangsong sebagai lokasi pengambilan sampel yang tercemar minyak bumi. Kemudian sampel dibawa ke laboratorium untuk dilakukan pengujian analisis degradasi kadar benzena oleh bakteri yang berasal dari sedimen dengan penggunaan konsentrasi 0,05 ppm. Penggunaan variasi konsentrasi nitrat yaitu A: 0,2 mg/L B: 0,3 mg/L, dan C: 0,4 mg/L. Pengamatan dilakukan dalam interval waktu jam ke 0, 6, 12, 24, dan 48. Kemudian optical density yang diperoleh dibuat kurva pertumbuhan untuk mengetahui fase pertumbuhan bakteri dalam mendegradasi benzena yang terdapat di sampel sedimen tersebut. Data yang dihasilkan lalu diolah dan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik.

Pengukuran Kepadatan Bakteri

Jumlah bakteri dapat dihitung menggunakan spektrofotometer yang prinsip kerjanya adalah membaca tingkat kekeruhan dalam media bakteri. Spektrofotometer dapat menghitung seluruh sel bakteri baik yang

hidup maupun yang mati. Jadi semua suspensi yang ada dalam larutan kuvet akan terbaca semua. Prinsip kerja spektrofotometer adalah cahaya dari sumber radiasi jatuh pada suatu medium homogen, sebagian dari sinar masuk akan dipantulkan, sebagian di serap dalam medium itu, dan sisanya diteruskan. Nilai %T merupakan hasil pembacaan akan diperoleh sehingga dapat dihitung nilai Optical Density (OD). OD dihitung melalui persamaan OD (absorbansi) = $2 - \log \%T$. OD adalah jumlah cahaya yang dihamburkan dan diserap oleh sel dalam suatu larutan. Semakin banyak mikroorganisme dalam suatu larutan maka larutan akan semakin keruh, sehingga nilai %T akan semakin kecil dan nilai absorbansi semakin besar (Tortora, 2013).

Pengukuran Konsentrasi Benzena

Larutan standar benzena dengan konsentrasi 0,05 mg/L, masing-masing disuntikan ke dalam alat kromatografi gas pada kondisi analisis terpilih. Luas puncak yang diperoleh dicatat dan diolah secara statistik sehingga adanya persamaan regresi dan koefisien korelasinya.

Tingkat degradasi senyawa hidrokarbon dihitung dengan cara (Astuti 2003) :

$$\% \text{ degradasi} = (A-B) / A \times 100 \%$$

Keterangan :

A = Luas area awal

B = Luas area akhir

Pengamatan ini dilakukan pada waktu ke-0, 6, 12, 24, dan 48 jam, sehingga didapatkan kurva pertumbuhan bakteri dalam menurunkan konsentrasi benzena.

Pengukuran Konsentrasi Nitrat

Penentuan konsentrasi nitrat dilakukan dengan membuat kurva standar dengan mengukur absorbansi dari berbagai jenis

variasi konsentrasi, sehingga diperoleh persamaan regresi linear = $ax + b$, dimana : y = absorbansi, x = konsentrasi, a = slope atau kemiringan dan b = intersep. Nilai x atau konsentrasi setiap sampel pengujian yang didapatkan kemudian dimasukkan kedalam rumus regresi linear untuk mengetahui konsentrasi nitrat dari masing-masing sampel yang diuji.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Lokasi Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel sedimen berada pada titik koordinat 06°18'32.8" S 108°22'081" E. Pemilihan lokasi sampling berdasarkan pada keadaan sedimen pesisir yang telah tercemar oleh limbah minyak bumi dari kegiatan perkapalan atau kegiatan nelayan di sekitar pesisir karangsong. Sedimen pesisir yang digenangi air laut terlihat dengan warna sedimen yang berbeda yaitu terdapat lapisan minyak berwarna hitam pekat dan bau yang menyengat. Sedimen tersebut memiliki tekstur berlumpur, sehingga bila terkena kontak fisik secara langsung akan menempel dan sukar untuk dibersihkan. Adapun parameter lingkungan dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan hal tersebut oksigen terlarut yang dihasilkan pada saat sampling lebih rendah dibandingkan dengan kisaran normal yaitu sebesar 2,6 mg/L. Sampel sedimen yang diambil merupakan sedimen yang mengendap dan terkontaminasi minyak bumi, sehingga bakteri anaerob dapat tumbuh dengan oksigen yang lebih rendah dan memanfaatkan senyawa hidrokarbon benzena dibandingkan dengan bakteri aerob. Salinitas di lokasi sampling dalam kondisi normal yaitu 29,8 ppt. Sesuai dengan pernyataan Nybakken (1992) bahwa kawasan estuari memiliki rentang salinitas berkisar antara 5-35 ppt.

Tabel 1. Parameter Lingkungan

Koordinat	Parameter	Satuan	Rata-rata	Standar Deviasi
S 06°18'32.8" E 108°22'081"	DO	mg/L	2,6	0,58
	Salinitas	mg/L	29,8	0,58
	Suhu	°C	29,8	1,15
	pH	-	7,5	0,03

Kondisi salinitas di kawasan pesisir tidak terlalu tinggi, hal ini disebabkan karena daerah pesisir dipengaruhi oleh pasang surut air laut serta aktifitas daratan seperti aliran sungai maupun dari penduduk. Suhu berada pada kondisi normal yaitu 29,8°C, Nybakken (1988) menyatakan bahwa nilai suhu di lapisan permukaan laut yang normal berkisar antara 20-30°C. Suhu dapat mendukung pertumbuhan bakteri laut pada suhu minimum ataupun maksimum. Nilai pH di lokasi berkisar antara 7,5 dimana nilai pH tersebut dalam kondisi optimum bagi pertumbuhan bakteri, hal ini didukung dengan pernyataan Salle (2002) bahwa bakteri laut dapat tumbuh pada pH optimum sebesar 7,2-8,5 sedangkan pada pH minimum sebesar 6,5-8,5.

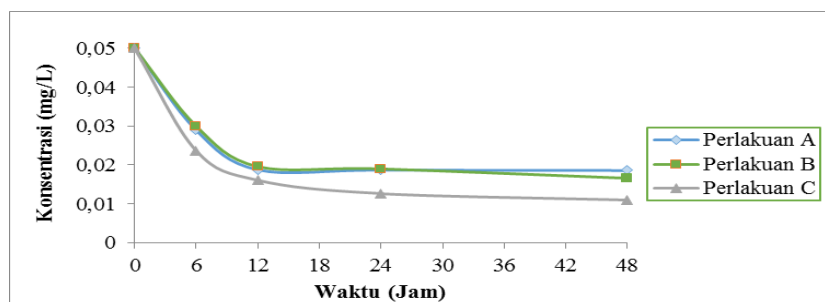
Faktor-faktor yang mendukung proses bioremediasi minyak adalah faktor fisika-kimia (komposisi minyak, konsentrasi minyak, kondisi fisik minyak, suhu, oksigen, nutrisi, salinitas, tekanan, aktivitas air dan pH), serta faktor biologi (kemampuan mikroorganisme itu sendiri). Fungsi seluler, transpor membran, dan keseimbangan reaksi katalis sangat dipengaruhi pH, sehingga mempengaruhi pertumbuhan dan tingkat degradasi senyawa-senyawa yang terdapat dalam tanah yang tercemar limbah minyak bumi (Cookson 1995).

Konsentrasi Benzena

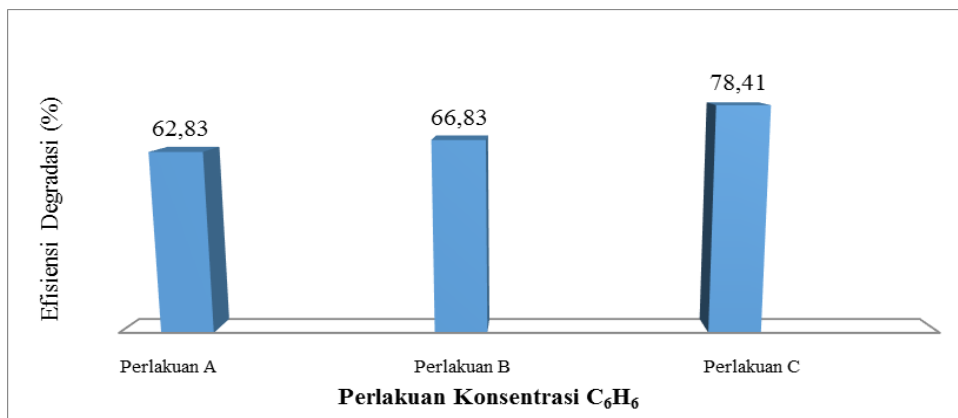
Pada perlakuan A yaitu t₀ (jam ke 0) hingga t₂ (jam ke 12) mengalami penurunan konsentrasi dengan persentase sebanyak 62,52% dilanjutkan t₃ (jam ke 24) hingga t₄ (jam ke 48) dengan persentase sebanyak 62,83%, pada perlakuan B yaitu t₀ (jam ke 0) hingga t₂ (jam ke 12) mengalami penurunan konsentrasi dengan persentase sebanyak 60,91% dilanjutkan t₃ (jam ke 24) hingga t₄ (jam ke 48) dengan persentase sebanyak 66,82%, kemudian pada perlakuan C yaitu t₀ (jam ke 0) hingga t₂ (jam ke 12) mengalami penurunan konsentrasi dengan persentase sebanyak 67,97% dilanjutkan t₃ (jam ke 24) hingga t₄ (jam ke 48) dengan persentase sebanyak 78,41%. Hasil degradasi tertinggi dari ketiga perlakuan terjadi di perlakuan C yaitu sebesar 78,41% dari konsentrasi awal sebanyak 0,0500 mg/L menjadi 0,0186 mg/L (Gambar 1).

Mengacu pada penelitian yang telah dilakukan oleh Zam 2011 yaitu memiliki laju pertumbuhan bakteri yang tinggi dengan kemampuan mendegradasi TPH sebesar 73,241%. Maka telah diketahui bahwa senyawa benzena yang mengalami penurunan konsentrasi terbaik dan persentase tertinggi dengan adanya bakteri dalam waktu 48 jam yaitu pada perlakuan C. Penelitian terdahulu oleh Wulan, dkk (2015) menunjukkan hasil persentase degradasi benzena mencapai 85% dengan variasi C:N:P menggunakan metode *Biobarrier*.

Riset ini dilakukan selama 48 jam dengan nilai efisiensi yang berkisar antara 62,83% – 78,41%. Penurunan tertinggi berada pada perlakuan C yaitu sebanyak 78,41% dengan konsentrasi benzena sebesar 0,0500 mg/L dan konsentrasi Nitrat sebesar 0,4 mg/L. Penurunan terendah berada pada perlakuan A yaitu 62,83% dengan konsentrasi benzena sebesar 0,0500 mg/L dan konsentrasi NO₃ sebesar 0,2 mg/L. Keterkaitan antara grafik efisiensi degradasi dengan kurva pertumbuhan bakteri ialah pada perlakuan C menunjukkan bahwa kurva logaritmik pada fase adaptasi dan fase eksponensial lebih cepat dibandingkan dengan perlakuan A dan B serta mengalami fase kematian secara cepat karena stok energi mulai habis, hal ini menjadi alasan bahwa pada pertumbuhan bakteri fase eksponensial bakteri membelah diri dengan konstan secara cepat, fase ini membutuhkan energi lebih banyak dibandingkan fase yang lain. Pertumbuhan bakteri yang terlihat pada perlakuan C diakibatkan karena bakteri telah memanfaatkan senyawa benzena sebagai nutrisi dan sumber makanan untuk pertumbuhannya (Gambar 2). Pelczar dan Chan (1986), menyatakan bahwa mikroba akan tumbuh dan berkembang jika tersedianya nutrisi yang cukup dan kondisi lingkungan yang memadai. Suschka, dkk (2001) menyatakan bahwa benzena merupakan senyawa yang paling sukar didegradasi dan bakteri pendegradasi benzena yang paling baik adalah *Bacillus stearothermophilus*.



Gambar 1. Grafik Penurunan Konsentrasi Benzena (C₆H₆)



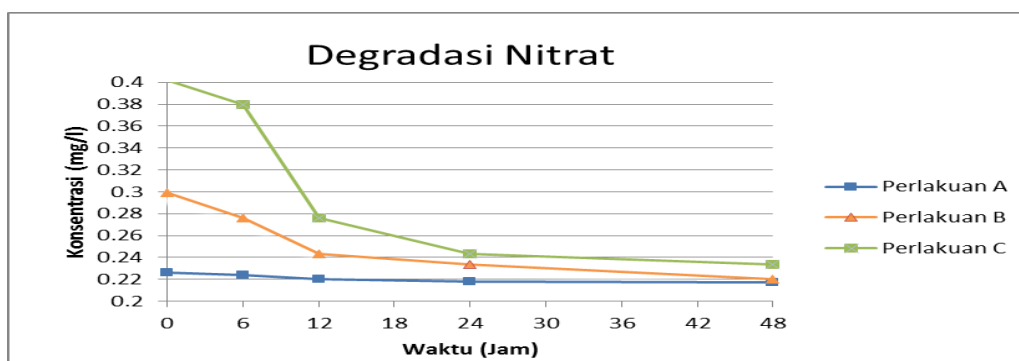
Gambar 2. Efisiensi Degradasi Benzena (%)

Konsentrasi Nitrat (NO_3)

Perlakuan A dengan konsentrasi nitrat sebesar 0,2 mg/L menunjukkan hasil yaitu dari jam ke 0 hingga jam ke 48 mengalami penurunan tetapi tidak terlalu signifikan. Jika dibandingkan dengan perlakuan B mengalami penurunan secara terus menerus dari waktu ke waktu dimana konsentrasi nitrat awal sebesar 0,3 mg/L mengalami penurunan konsentrasi pada jam ke 6 hingga jam ke 48. Jam ke 6 mengalami penurunan konsentrasi menjadi 0,27 mg/L, lalu jam ke 12 menjadi 0,24 mg/L, jam ke 24 menjadi 0,23 mg/L dan jam ke 48 menjadi 0,22 mg/L. Sama halnya dengan perlakuan B, pada perlakuan C memiliki konsentrasi awal sebesar 0,4 mg/L, dan mengalami penurunan dari jam ke 6 hingga jam ke 48. Pada jam ke 6 konsentrasi menjadi 0,38 mg/L, jam ke 12 menurun menjadi 0,27 mg/L, jam ke 24 menjadi 0,24 mg/L dan pada jam terakhir yaitu jam ke 48 konsentrasi menurun menjadi 0,23 mg/L (Gambar 3). Suatu studi Laboratorium menunjukkan bahwa penambahan posfat dan amonia, khususnya nitrat akan mempercepat biodegradasi

hidrokarbon bagi mikroba dalam pertumbuhannya (Wardley 1983).

Degradasi senyawa Nitrat dilakukan selama 48 jam, dengan nilai efisiensi 3.98% hingga 41.79%. Efisiensi degradasi tertinggi terdapat di perlakuan C yaitu 41.79%. Adanya proses degradasi artinya terdapat bakteri yang memanfaatkan nitrat untuk proses reaksi reduksi, sehingga terjadi penurunan konsentrasi nitrat dan kenaikan persentase degradasi. Hasil riset yang telah dilakukan oleh Triyanto, dkk (2008) bahwa daya mereduksi nitrat isolat-isolat tersebut berkisar antara 0,77%-95,62%, dan seleksi kemampuan reduksi nitrat isolat asal Indramayu berkisar antara 27,91%-87,64%. Artinya bahwa pada perlakuan variasi konsentrasi nitrat dengan sampel yang didapatkan dari pesisir Karangsang dapat didegradasi secara efisien oleh isolat tersebut dengan kemampuan mendegradasi sebesar 3.98% hingga 41.79%. Bakteri denitrifikasi adalah kelompok bakteri yang memiliki kemampuan untuk melakukan reaksi reduksi senyawa nitrat (NO_3) menjadi senyawa nitrogen bebas (N_2). Proses ini pada umumnya berlangsung secara anaerobik.



Gambar 3. Grafik penurunan konsentrasi nitrat (NO_3)



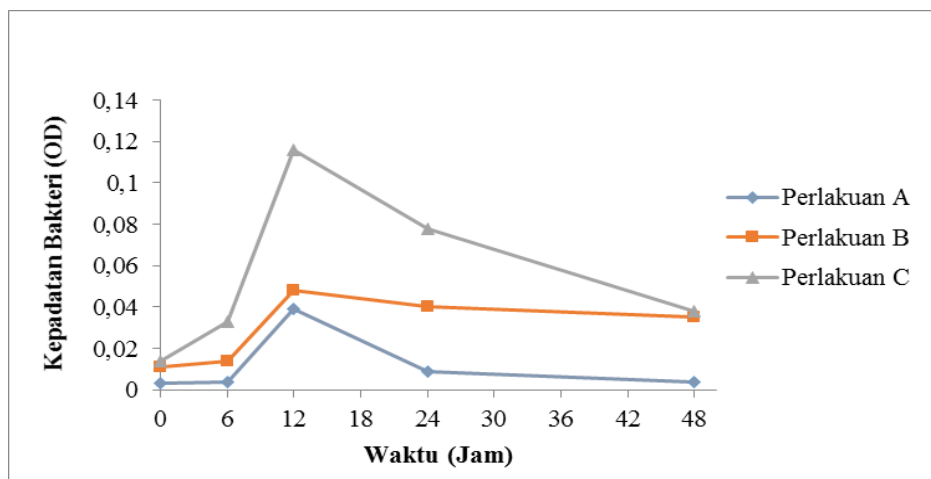
Gambar 4. Efisiensi Degradasi Nitrat (NO₃)

Pertumbuhan Bakteri atau Optical Density

Pertumbuhan bakteri mengalami kenaikan dan penurunan. Pada perlakuan A dengan konsentrasi 0,2 mg/L. Pada jam ke 0-6 bakteri mengalami adaptasi yang cukup lambat dan stok energi yang ada hanya sedikit. Jam ke 6-12 bakteri mengalami fase pertumbuhan secara cepat, fase ini disebut dengan fase log/eksponensial. Hampir sama dengan perlakuan C yaitu pada jam ke 12 hingga jam ke 48 mengalami fase kematian hal ini disebabkan karena nutrisi di dalam medium dan energi dalam cadangan sel sudah habis, sehingga bakteri tidak dapat menggunakan nutrisi untuk tumbuh. Berbeda dengan perlakuan B konsentrasi 0,3 mg/L bakteri mengalami tiga fase kecuali fase kematian, pada jam ke 0-6 bakteri tersebut beradaptasi dengan lambat atau mengalami fase lag, dimana bakteri menyesuaikan diri dengan lingkungannya. Hal ini dipengaruhi oleh kultur yang dipindahkan dari medium kaya akan nutrisi ke medium yang kandungan nutriennya terbatas. Pada jam ke 6-12 bakteri

mengalami fase log/eksponensial yaitu bakteri membelah diri dengan cepat secara konstan, fase ini bakteri membutuhkan energi lebih banyak dibandingkan dengan fase lainnya. Jam ke 12-48 bakteri mengalami fase stasioner, pada fase ini jumlah populasi sel tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati.

Perlakuan C dengan konsentrasi 0,4 mg/L bakteri mengalami pertumbuhan secara cepat selama kurun waktu 0-12 jam, setelah jam ke 12 bakteri tersebut mengalami penurunan secara konstan hingga jam ke 48. Fase yang terjadi pada saat jam ke 0 hingga jam ke 12 disebut dengan fase log atau pertumbuhan eksponensial, dimana fase ini bakteri membelah diri dengan cepat dan konstan mengikuti kurva logaritmik, hal ini dipengaruhi oleh medium tempat tumbuhnya bakteri yaitu kandungan nutrisi serta kondisi lingkungan seperti pH dan suhu. Setelah jam ke 12 hingga jam ke 48, populasi bakteri mengalami fase kematian, maka perlakuan C mengalami adaptasi/fase lag secara cepat.



Gambar 5. Kurva pertumbuhan pendegradasi Benzena dengan variasi konsentrasi Nitrat

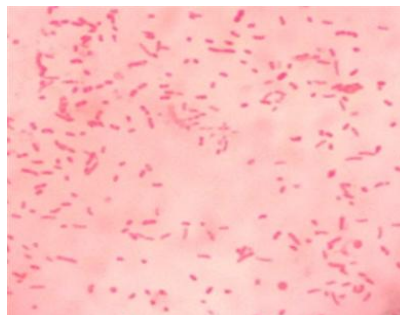
Isolasi Bakteri

Inkubasi dilakukan selama 1x24 jam pada suhu 28°C-30°C menggunakan desikator, pada medium NA terlihat adanya koloni yang tumbuh baik diatas permukaan medium agar maupun di kolom medium agar. Hasil dari isolasi bakteri kemudian dilakukan pemilihan dengan mengambil bakteri yang tumbuh di kolom medium, karena bakteri yang tumbuh di kolom medium merupakan bakteri anaerob. Dari setiap cawan petri dilakukan pemurnian ke medium nutrisi agar yang baru. Pemurnian dilakukan berdasarkan pada warna dan bentuk koloni dengan hasil isolat bakteri yang seragam. Menurut Volk (1988) perbedaan bentuk pertumbuhan koloni bakteri pada medium nutrisi agar dapat dijadikan dasar dalam identifikasi bakteri. Jenis *Bacillus* spp. menunjukkan bentuk koloni yang berbeda-beda pada medium agar cawan nutrisi agar. Warna koloni pada umumnya putih sampai kekuningan atau putih suram, tepi koloni bermacam-macam namun pada umumnya tidak rata (Hatmanti 2000).

Pewarnaan Gram

Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan pewarnaan gram. Setelah dilakukan pengamatan dari hasil pewarnaan gram, dihasilkan isolat yang berwarna merah yang merupakan bakteri gram negatif dengan bentuk sel basil atau batang (gambar 6). Menurut Fardiaz (1989), dalam pewarnaan gram sel-sel yang tidak dapat melepaskan warna dan akan tetap berwarna seperti warna kristal violet yaitu biru-ungu disebut bakteri gram positif. Sedangkan sel-sel yang dapat melepaskan kristal violet dan mengikat safranin sehingga berwarna merah-merah muda disebut bakteri gram negatif.

Isolat bakteri murni diseleksi menjadi satu dari beberapa isolat lainnya. Seleksi isolat dilakukan berdasarkan pengamatan makroskopis yang kemudian dilakukan pengamatan mikroskopis dengan mengambil perwakilan isolat dari cawan petri yang memiliki ukuran dan bentuk berbeda. Seleksi ini dilakukan agar mengetahui isolat yang lebih spesifik sebagai agen biodegradasi senyawa benzena.



Gambar 6. Hasil Pewarnaan Gram Bakteri

SIMPULAN

Berdasarkan hasil riset yang telah dilakukan, terdapat 1 isolat murni bakteri gram negatif dengan bentuk basil asal pesisir Karangsang, Kabupaten Indramayu yang memiliki kemampuan dalam menurunkan konsentrasi Benzena (C_6H_6) dengan persentase penurunan 62,83% – 78,41% selama kurun waktu 48 jam dan penurunan konsentrasi yang lebih efektif berada pada perlakuan C yaitu sebesar 78,41% dengan penambahan konsentrasi NO_3 sebesar 0,4 mg/L.

DAFTAR PUSTAKA

ATSDR. 2007. Toxicological Profile for Benzene. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), (August), 438. Retrieved from <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp3.pdf>

Ghazali FM. 2004. Biodegradation of Petroleum Hydrocarbons by Microbial Consortia. Faculty of Science and Environmental Studies. Universiti Putra Malaysia.

Oktavia, D. A., Mangunwidjaja, D., Wibowo, S., & Sunarti, T. C. (2012). Pengolahan Limbah Cair Perikanan Menggunakan Konsorsium Mikroba Indegenous Proteolitik dan Lipolitik. *Agrointek*, 6(2), 65–71.

Sudrajad, A. 2006. Tumpahan Minyak di Laut dan Beberapa Catatan Terhadap Kasus di Indonesia. *Majalah Inovasi* Vol.6.

Triyanto, dkk. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pendetrifikasi yang diisolasi dari Lumpur Kawasan Mangrove. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.