

## Efektifitas *Azotobacter chroococcum* dalam Proses Bioremediasi Tanah Terkontaminasi Limbah Minyak Bumi Menggunakan Bakteri Petrofilik

Pujawati Suryatmana<sup>1)</sup>, Tipah Latifah<sup>2)</sup>, Nadia Nuraniya Kamaluddin<sup>3)</sup>,  
Reginawanti Hindersah<sup>4)</sup> dan Mieke Rochimi Setiawati<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup>Departemen Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran

<sup>2)</sup>Alumni Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran  
Jl. Soekarno km 21, Jatinangor - Jawa Barat, Indonesia

Korespondensi: [pujawati@unpad.ac.id](mailto:pujawati@unpad.ac.id)

### ABSTRACT

*Bioremediation is a method for restoring land contaminated by waste, utilizing the activity of microorganisms to reduce and eliminate the toxicity levels of pollutants. A major challenge in the bioremediation of petroleum waste is the extremely low solubility of petroleum and the limited capacity of hydrocarbon-degrading bacteria. This study aims to examine the potential of petrophilic bacteria and Azotobacter chroococcum in enhancing hydrocarbon degradation efficiency, the viability of petrophilic bacteria and Azotobacter spp., and soil acidity characteristics (pH) during the bioremediation process. The experiment used a factorial randomized complete block design (RCBD) with two factors and three replications. The first factor was the type of petrophilic bacteria which consisted of two levels: (a0) without petrophilic bacteria, and (a1) 2% petrophilic bacterial inoculation per waste load. The second factor was the dose of Azotobacter chroococcum, consisted of four levels: (b0) without A. chroococcum, (b1) 0.5%, (b2) 1%, and (b3) 1.5% A. chroococcum. The results showed that soil pH decreased from a range of 8–9.1 to 6.6–6.7 after the bioremediation process, despite no significant differences were detected between treatments. Biodegradation efficiency increased with the application of A. chroococcum and petrophilic bacteria compared to the control, although no significant differences were found between the bacterial treatments. The application of A. chroococcum at 1% and 1.5% significantly increased Azotobacter population density. Overall, petrophilic bacteria and A. chroococcum demonstrated high effectiveness in improving biodegradation efficiency.*

*Keywords: Azotobacter chroococcum, Biodegradation efficiency, Hydrocarbons, Petrophilic bacteria*

### 1. PENDAHULUAN

Salah satu pencemar yang berbahaya dan merusak lingkungan tanah, air dan udara adalah pencemaran yang berasal dari industri minyak bumi. Limbah minyak bumi berupa lumpur berminyak mengandung senyawa hidrokarbon. Senyawa hidrokarbon dalam lumpur minyak memiliki cincin benzena hidrokarbon, contohnya adalah benzena, toluena, etilbenzena, xylene dan logam-logam berat yang berpotensi karsinogenik (Cookson, 1995; Qui *et al.*, 2009; Indawan dkk., 2012). Sehingga kandungan hidrokarbon aromatik turut menentukan tingkat toksisitas dan resistensi minyak bumi.

Senyawa yang terkandung dalam minyak bumi tersebut bersifat toksik dan sulit didegradasi karena tingkat kelarutan minyak bumi yang sangat rendah. Hal ini dikarenakan

mikroorganisme pedegradasi hidrokarbon indigen memiliki kapasitas metabolik yang terbatas dan tidak toleran terhadap fluktuasi perubahan substrat akibat terjadinya transformasi hidrokarbon (Suryatmana, 2006).

Bioremediasi merupakan alternatif degradasi minyak bumi yang dapat menurunkan atau menghilangkan toksisitas melalui perubahan karakteristik dan komposisi kontaminan. Bioremediasi dengan menggunakan mikroorganisme dapat mengurangi mobilitas, massa, dan konsentrasi polutan secara ramah lingkungan (Bhattacharya *et al.*, 2002; Dzionek *et al.*, 2016). Kecepatan biodegradasi hidrokarbon dipengaruhi berbagai faktor diantaranya: suhu, kelembaban, pH, nisbah unsur hara, kadar oksigen dan aktivitas mikrob dalam tanah (Kebede *et al.*, 2021; Tuhuloula,

2020). Penggunaan mikroba tanah dinilai akan meningkatkan efisiensi proses remediasi hidrokarbon (Omoni *et al.*, 2024; Boto *et al.*, 2021). Namun, tingkat kelarutan senyawa hidrokarbon merupakan faktor penting yang memengaruhi proses biodegradasi limbah minyak bumi; semakin tinggi kelarutannya, semakin mudah senyawa tersebut didegradasi (Suryatmana *et al.*, 2007).

Proses bioremediasi tidak lepas dari peranan mikroorganisme. Kelompok mikroba petrofilik merupakan mikroba mendegradasi hidrokarbon. Bakteri petrofilik mempunyai peran yang terbaik dalam degradasi hidrokarbon, dengan cara menggunakan hidrokarbon dari minyak sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhan dan energi. Suryatmana (2006) melaporkan bahwa dosis 2 % konsorsium bakteri petrofilik diantaranya *Pseudomonas sp.*, *Acinetobacter.*, *Enterobacter sp.* dan *Bacillus cereus* mampu menurunkan TPH dari 8 % hingga 3 % dalam waktu 60 hari dengan efisiensi 31,15 %-54,98 %. Munawar (2012) melaporkan bahwa bahwa 2,5 % konsorsium bakteri petrofilik mampu menurunkan kadar TPH dari 15 % hingga 1 % dengan efisiensi sebesar 93,3 % dalam waktu 112 hari.

Mikroorganisme memerlukan sumber energi agar mampu hidup dan berperan aktif dalam proses degradasi polutan. Karbon merupakan sumber energi penting dalam pertumbuhan mikroba (Setyowati, 2008). Mikroorganisme mampu memanfaatkan polutan organik sebagai sumber karbon untuk mendegradasinya hingga menjadi senyawa sederhana, namun penggunaan isolat tunggal sering menghasilkan efek yang tidak konsisten (Sui *et al.*, 2021; Das *et al.*, 2011; Senko *et al.*, 2004; Velacano *et al.*, 2014). Penggunaan mikroba dalam konsorsium lebih disarankan, karena kerja enzim dari berbagai mikroba dapat saling melengkapi untuk mendukung pertumbuhan mikroba (Asri, 2016).

Selain karbon, unsur hara juga merupakan sumber nutrisi penting untuk mikroorganisme. Sehubungan dengan dukungan sumber nutrisi bagi mikroba, konsorsium yang disarankan adalah dengan mikroba yang dapat meningkatkan ketersediaan hara. Salah satu mikroba fungsional yang dapat digunakan adalah bakteri penambat N. Mikroorganisme memerlukan Nitrogen untuk proses sintesa protein.

*Azotobacter chroococcum* adalah bakteri non-simbiotik pengikat nitrogen yang ditemukan pada berbagai jenis tanah, mampu menghasilkan surfaktan dengan tingkat emulsifikasi hingga 96%, sehingga meningkatkan kelarutan hidrokarbon dan efisiensi biodegradasi secara signifikan (Suryatmana *et al.*, 2007). *Azotobacter* juga dapat mengekresikan ekso-polisakarida (EPS) dan asam lemak yang berfungsi sebagai biosurfaktan untuk meningkatkan kelarutan minyak ke dalam sel bakteri (Vermani *et al.*, 1997). Karakteristik ini menjadikan *A. chroococcum* dapat berperan ganda dalam bioremediasi, yaitu sebagai penyedia nitrogen dan agen peningkat kelarutan minyak bumi.

Dalam penelitian ini digunakan konsorsium bakteri petrofilik dan *A. chroococcum* dikombinasikan sebagai alternatif prospektif untuk meningkatkan efisiensi degradasi limbah minyak bumi. Penelitian difokuskan pada evaluasi efek aplikasi kedua bakteri tersebut terhadap efisiensi biodegradasi, perubahan karakteristik keasaman tanah, serta viabilitas bakteri petrofilik dan *A. chroococcum* dalam sistem bioremediasi.

## 2. BAHAN DAN METODE

Percobaan dilaksanakan di rumah kaca Kebun Percobaan Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran dengan ketinggian tempat 725 meter di atas permukaan laut (m dpl) dan analisis dilakukan di Laboratorium Biologi Tanah Departemen Ilmu Tanah Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran.

## 2.1 Bahan dan Alat Percobaan

Bahan-bahan yang digunakan dalam percobaan ini antara lain: Inceptisols Jatinangor yang diambil secara komposit sebagai media tanam. Isolat bakteri petrofilik asal limbah minyak bumi Pertamina Balongan, Kab. Indramayu. Inokulan *Azotobacter chroococcum* dengan kepadatan  $10^7$  CFU ml<sup>-1</sup> koleksi Laboratorium Biologi Tanah Fakultas Pertanian, UNPAD, yang berasal dari *rhizosfer* tanaman kacang kedelai. Limbah minyak bumi dari Pertamina Balongan, Kab. Indramayu dengan nilai TPH awal limbah 10 %.

Media biakan *Azotobacter chroococcum* untuk produksi biosurfaktan yaitu dengan komposisi dalam satu liter akuades sebagai berikut: K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 3 g L<sup>-1</sup>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1g L<sup>-1</sup>, MgSO<sub>4</sub> 1g L<sup>-1</sup>. Media untuk perhitungan total populasi bakteri petrofilik yaitu media basal yang mengandung 1% *crude oil* berupa lumpur minyak bumi (*sludge*) yang berasal dari Pertamina Balongan – Indramayu, dengan komposisi dalam satu liter akuades sebagai berikut: K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 3 g L<sup>-1</sup>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1g L<sup>-1</sup>, MgSO<sub>4</sub> 1g L<sup>-1</sup> agar 15 g L<sup>-1</sup> dan akuades 1 L.

## 2.2 Rancangan Percobaan

Percobaan ini merupakan eksperimental dengan rancangan percobaan Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial. Faktor pertama yaitu perlakuan bakteri petrofilik. Faktor ke dua adalah dosis *Azotobacter chroococcum*. Masing-masing kombinasi perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Susunan perlakuan berdasarkan faktor dijelaskan sebagai berikut:

Faktor pertama (jenis petrofilik) terdiri atas dua taraf:

- a<sub>0</sub> = Tanpa pemberian bakteri petrofilik
- a<sub>1</sub> = 2% isolat bakteri petrofilik/beban limbah

Faktor kedua (dosis *Azotobacter chroococcum*) terdiri atas empat taraf:

- b<sub>0</sub> = Tanpa pemberian *Azotobacter chroococcum*

b<sub>1</sub> = 0,5% *Azotobacter chroococcum*/beban limbah

b<sub>2</sub> = 1% *Azotobacter chroococcum*/beban limbah

b<sub>3</sub> = 1,5% *Azotobacter chroococcum*/beban limbah

## 2.3 Pengamatan Respon

Pengamatan yang dilakukan pada percobaan ini terdiri dari Efisiensi degradasi hidrokarbon diukur pada 8 minggu setelah perlakuan (MSP) dengan metode ekstraksi n-Heksan. Uji viabilitas *Petrofilik* dan *Azotobacter* dengan metode *total plate count* (TPC) yang diukur pada 8 MSP. Pengukuran juga dilakukan terhadap pH tanah sebelum dan sesudah percobaan yang dilakukan pada 8 MSP.

## 2.4 Isolasi Petrofilik dan aklimatisasi Isolat Petrofilik

Isolasi mikroba petrofilik dilakukan pada awal percobaan. Sumber isolasi mikroba petrofilik berasal dari limbah lumpur minyak bumi Pertamina Balongan. Mikroba yang diisolasi berupa bakteri, dan ditumbuhkan selama 4 hari dalam media basal yang mengandung 1 % minyak bumi sebagai sumber karbonnya. Hasil isolasi mikroba diaklimatisasi selama 7 minggu.

Aklimatisasi dilakukan setelah mikroba yang diisolasi tumbuh dengan baik. Isolat dipindahkan ke dalam 250 media basal mengandung 1% minyak bumi. Aklimatisasi dilakukan selama 7 minggu, diharapkan mikroba dapat beradaptasi dan mampu mendegradasi hidrokarbon. Hal ini ditandai dengan pertumbuhan mikroba yang cepat dan penurunan konsentrasi TPH pada media aklimatisasi. Setelah aklimatisasi, selanjutnya mikroba diperbanyak untuk diaplikasikan pada percobaan.

## 2.5 Analisis Tanah Awal dan Perbanyakan Inokulan

Analisis tanah dilakukan untuk mengetahui sifat kimia, dan sifat fisika tanah tersebut.

Pengambilan contoh tanah dilakukan secara komposit sebanyak 1 kg pada kedalaman 0-20 cm. Tanah tersebut dibersihkan dari sisa-sisa tanaman dan kotoran lainnya, kemudian dikeringanginkan. Setelah kering, tanah dihaluskan dan disaring dengan saringan berukuran 2 mm. Analisis sifat kimia dan fisika tanah dilakukan terhadap parameter: pH, C-organik, N-total, nisbah C/N, kadar P-tersedia dan P-total (potensial), kadar K-total, dan tekstur tanah.

Perbanyakkan inokulan untuk bakteri petrofilik menggunakan media basal, sedangkan perbanyakkan *Azotobacter chroococcum* menggunakan media cair vermani untuk produksi inokulan. Isolat starter yang diinokulasikan ke dalam media produksi adalah 10% dari volume media, dan diinkubasi selama 72 jam dengan kecepatan 100 rpm.

## 2.6 Aplikasi Petrofilik dan *Azotobacter chroococcum* pada Media Tanah

Konsentrasi limbah minyak bumi yang digunakan adalah 10 % (v/w) dari 2 kg media tanah. Penambahan *bulking agent* sebanyak 5% pada tanah dikontaminasi limbah minyak bumi dilakukan sebelum aplikasi mikroba. Inokulan mikroba petrofilik dan *Azotobacter chroococcum* diinokulasikan ke dalam limbah minyak bumi sesuai dengan dosis perlakuan. Selanjutnya campuran tersebut diaduk hingga homogen.

Pemeliharaan dilakukan agar mikrob dalam tanah mendapatkan kondisi optimal untuk tetap beraktivitas. Selama proses bioremediasi berjalan dilakukan pembalikan pada media setiap harinya untuk memberikan aerasi yang cukup. Pemberian air pada kapasitas lapang diberikan untuk menjaga kelembaban tanah selama proses bioremediasi berlangsung

## 2.7 Analisis Total Petroleum Hydrokarbon (TPH)

Analisis TPH dilakukan untuk mengetahui konsentrasi residu TPH selama proses bioremediasi berlangsung, dengan menggunakan

metode gravimetri n-Heksan (modifikasi Iwabuchi *et al.*, 2000).

Tahap pertama yang dilakukan adalah sample diekstraksi dengan pelarut n-Heksan. Sebanyak 10 g tanah terkontaminasi limbah minyak bumi diekstraksi dengan 30 ml pelarut n-Heksan di dalam botol pengestrak, sample dalam n-hexan dikocok menggunakan dengan *vortex* pada putaran 100 rpm selama 30 menit. Selanjutnya dilakukan pemisahan larutan hexan yang mengandung TPH dengan cara pengendapan. Pada tahap pemisahan ini didapat lapisan teratas yang merupakan minyak bumi terlarut dalam n-Heksan. Hasil ekstraksi dituangkan ke dalam botol vial pengering. Tahap ekstraksi diulang sampai larutan menjadi bening. Selanjutnya N-heksan dikeringkan sehingga diperoleh residu TPH. Tahap selanjutnya adalah penimbangan residu TPH secara gravimetrik.

## 2.8 Perhitungan Efisiensi Degradasi dan Populasi Bakteri Petrofilik

Efisiensi degradasi hidrokarbon dihitung dengan menganalisis residu TPH, berikut adalah rumus efisiensi degradasi (Ef):

$$Ef = \frac{TPH_0 - TPH_a}{TPH_0} \times 100 \%$$

Dimana :

Ef = Efisiensi degradasi

TPH<sub>0</sub> = Konsentrasi TPH awal

TPH<sub>a</sub> = Konsentrasi TPH akhir

## 2.9 Analisis Statistik

Pengujian signifikan untuk mengetahui pengaruh perlakuan dilakukan analisis ragam pada taraf nyata 5 %. Apabila terdapat perbedaan yang nyata, pengujian dilanjutkan dengan Uji Lanjut Jarak Berganda Duncan pada taraf nyata 5% (Gomez dan Gomez, 1995).

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1 Analisis Awal Tanah Percobaan

Tanah yang digunakan dalam penelitian ini adalah Inceptisols yang diambil pada

lapisan *top soil* tanah Jatinangor. Hasil analisis tanah awal Inceptisols yang digunakan dalam percobaan ini disajikan pada Tabel 1.

Hasil analisis menunjukkan tanah yang digunakan memiliki pH agak masam (5,98). Nilai pH tanah menentukan mudah tidaknya mikroba melakukan aktivitas metabolismenya (Subowo, 2014; Gonzales & Aranda, 2023). Selain itu, pH juga menentukan jenis mikrob yang berkembang optimal. Beberapa jamur mampu hidup pada pH asam, sedangkan bakteri hidup optimal pada pH yang netral (Hardjowigeno, 2010; 2006; Subowo, 2014).

Kandungan C-organik termasuk sedang (1,53 %) dengan kadar N-total 0,24 % yang termasuk rendah. Hasil nisbah C/N ratio 6,37 (rendah). Kandungan  $P_2O_5$  tersedia termasuk rendah walaupun hasil analisis terhadap P-potensial (P-HCl) menunjukkan kategori tinggi. Kadar  $K_2O$  total termasuk kategori sedang.

Pada sifat fisika, hasil analisis terhadap fraksi tanah: 53% (liat), 40% (debu), dan 7% (pasir). Berdasarkan segitiga tekstur USDA, kelas tekstur tanah termasuk liat. Tekstur tanah liat mampu menyimpan air lebih lama, namun aerasi menjadi lebih buruk.

**Tabel 1** Analisis Awal Inceptisols Kebun Percobaan, Jatinangor

No	Parameter	Satuan	Nilai	Kriteria*)
1.	pH $H_2O$		5,85	agak masam
2.	pH KCl 1 N		4,75	-
3.	C-Organik	%	1,53	sedang
4.	N-total	%	0,24	rendah
5.	C/N rasio		6,37	rendah
6.	$P_2O_5HCl$ 25%	mg 100 g <sup>-1</sup>	61,14	tinggi
7.	$K_2OHCl$ 25%	mg 100 g <sup>-1</sup>	21,05	sedang
8.	$P_2O_5$ Bray I	ppm P	51,43	rendah
9.	Tekstur:			
	Pasir (%)	%	7	
	Debu (%)	%	40	liat
	Liat (%)	%	53	
10.	pH tanah setelah dikontaminasi lumpur minyak bumi		8,0-9,1	

### 3.2 Reaksi Tanah (pH) Akhir

Berdasarkan hasil analisis ragam menunjukkan bahwa tidak terjadi pengaruh nyata dari efek intraksi dan mandiri antara jenis petrofilik dan dosis *A. chroococcum* terhadap penurunan pH tanah, data ditampilkan apad Tabel 2.

Nilai reaksi tanah (pH) yang diuji statistik ini merupakan pH akhir yang diambil bersamaan dengan parameter lain yaitu pada 8 minggu setelah perlakuan. Sedangkan pH awal Inceptisols memiliki nilai pH 5,85, tetapi setelah diberi limbah minyak bumi mengalami peningkatan pH menjadi 8,0-9,1 (Tabel 1). Peningkatan pH terjadi akibat adanya lumpur minyak bumi. Hal ini terjadi karena limbah minyak bumi memiliki pH basa sehingga pH

tanah meningkat. Peningkatan pH tanah yang terjadi disebabkan karena terjadi pelepasan ion  $H^+$  dari koloid tanah dan terbentuknya ion  $OH^-$ . Sednagkan pada analisis tanah apad akhir percobaan setelah proses bioremediasi berakhir diketahui perubahan pH tanah mengalami penurunan menjadi antara 6,67-6,73 (Tabel 2). Namun antar tiapa perlakuan tidak menunjukkan nilai pH yang berbeda secara nyata.

Hasil analisis menunjukkan bahwa perlakuan bakteri petrofilik dan dosis *Azotobacter chroococcum* tidak berpengaruh nyata terhadap penurunan pH tanah poada akhir proses biodegradasi. Menurut Coockson (1995) salah satu indikasi berlangsungnya proses biodegradasi hidrokarbon minyak bumi

adalah terjadinya penurunan pH tanah. Penurunan pH terjadi karena aktivitas biodegradasi hidrokarbon yang dilakukan oleh mikroba petrofilik yang mengekskresikan asam-asam organik.

**Tabel 2** Pengaruh Jenis Petrofilik dan Dosis *Azotobacter chroococcum* terhadap Reaksi Tanah (pH)

Perlakuan	Nilai pH tanah
<b>Petrofilik (A)</b>	
a <sub>0</sub> = Tanpapetrofilik	6,7
a <sub>1</sub> = 2 % isolat jamur petrofilik	6,7
-----	
<b><i>Azotobacter chroococcum</i>(B)</b>	
b <sub>0</sub> = Tanpa <i>Azotobacter chroococcum</i>	6,73
b <sub>1</sub> = 0,5 % <i>Azotobacter chroococcum</i>	6,67
b <sub>2</sub> = 1 % <i>Azotobacter chroococcum</i>	6,67
b <sub>3</sub> = 1,5 % <i>Azotobacter chroococcum</i>	6,7

Keterangan : Angka yang tidak diberi notasi huruf, tidak dilakukan Uji Lanjut Jarak Berganda Duncan karena tidak berbeda nyata berdasarkan analisis ragam pada taraf 5 %.

Menurut Udiharto (1999) biodegradasi hidrokarbon oleh mikroba akan menghasilkan produk berupa asam – asam organik yang

dapat menyebabkan berkurangnya pH. Besarnya penurunan pH yang berbeda-beda tergantung kepada besarnya presentase biodegradasi dan bakteri pendegradasinya. Semakin meningkat aktivitas mikroba mendegradasi hidrokarbon maka akan semakin meningkat pula jumlah asam – asam organik yang dihasilkan dan semakin besar juga penurunan pH yang dihasilkan. Senyawa alkana pada proses biodegradasi seperti okta-kosan (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 (Suryatmana et al. 2007). Asam organik dan asam lemak ini yang pada akhirnya akan menurunkan pH tanah.

### 3.3 Efisiensi Degradasi Hidrokarbon Akibat Perlakuan

Berdasarkan hasil analisis ragam menunjukkan bahwa terjadi pengaruh nyata dari efek interaksi antara jenis petrofilik dan dosis *A. chroococcum* terhadap peningkatan efisiensi degradasi hidrokarbon pada minggu ke-8 yang ditampilkan pada Tabel 3.

**Tabel 3** Pengaruh Jenis Petrofilik dan Dosis *Azotobacter chroococcum* terhadap Efisiensi Degradasi Hidrokarbon (%) dalam Bioremediasi Hidrokarbon Minyak Bumi

Petrofilik (a)	<i>Azotobacter chroococcum</i> (b)			
	0 %	0,5 %	1 %	1,5 %
Tanpa petrofilik	66,34 (a) A	94,91(a) B	96,89 (a) B	93,32( a) B
2 % isolat bakteri petrofilik	97,70 (b) A	89,40 (a) A	94,74 (a) A	95,89 (a) A

Keterangan: Nilai rata-rata yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji Lanjut Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%. Huruf kecil dibaca ke arah vertikal dan huruf kapital ke arah horizontal.

Tabel 3. menunjukkan bahwa pemberian 0,5 %, 1 % dan 1,5 % *A. chroococcum* tanpa petrofilik meningkatkan efisiensi degradasi hidrokarbon secara signifikan dibandingkan dengan kontrol (tanpa petrofilik + 0 % *A.*

*chroococcum*), namun tidak berbeda nyata antar perlakuan *A. Chroococum*.–Demikian pula aplikasi bakteri petrofilik dapat meningkatkan efisiensi degradasi hidrokarbon secara signifikan dibandingkan kontrol, namun tidak

berbeda nyata antar perlakuan aplikasi bakteri petrofilik yang ditambah *A.chroococcum*. perlakuan tanpa petrofilik. Hasil analisis menunjukkan bahwa potensi *A chroococcum* dalam meningkatkan efisiensi biodegradasi hidrokarbon setara dengan kemampuan bakteri petrofilik. Hal ini disebabkan karena kemampuan inokulan *A. chroococcum* dalam mendukung peran petrofilik indigenus yaitu dapat berkontribusi menyediakan N melalui mekanisme menambat unsur N udara menjadi NH<sub>4</sub>. Seperti menurut Hindersah and Simarmata (2004) bahwa *Azotobacter* merupakan genus bakteri pemfiksasi N.

Selain itu *A. Chroococcum* menghasilkan biosurfaktan yang dapat mendukung kemampuan petrofilik dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon. Biosurfaktan ini dapat meningkatkan tingkat kelarutan hidrokarbon sehingga petrofilik lebih mudah untuk mendegradasi senyawa hidrokarbon (Suryatmana, 2006). Biosurfaktan mampu meningkatkan efektivitas bioremediasi hidrokarbon melalui dua mekanisme, yaitu dengan meningkatkan ketersediaan substrat bagi mikroorganisme dan meningkatkan interaksi antara sifat hidrofobik permukaan zat dengan permukaan sel mikroba (Pacwaet *al.*, 2011). Sedangkan pada penambahan 1,5% *A. chroococcum* lebih rendah, diduga karena *A. chroococcum* menghasilkan senyawa antibakteri yang dapat menekan pertumbuhan dari bakteri indigenus sehingga senyawa hidrokarbon yang terdegradasi lebih sedikit yang menyebabkan efisiensi degradasi hidrokarbonnya rendah.

### 3.4 Total Populasi Akhir Bakteri Petrofilik

Berdasarkan hasil analisis ragam menunjukkan bahwa tidak terjadi pengaruh nyata dari efek interaksi antara jenis petrofilik dan dosis *A. chroococcum* terhadap peningkatan total bakteri petrofilik ditampilkan pada Tabel 4. Hasil analisis staitistik tidak terjadi peningkatan populasi bakteri Petrofilik secara

signifikan akibat perlakuan akibat inokulasi bakteri Petrofilik. Efek mandiri dosis *Azotobacter chroococcum* juga tidak menunjukkan peningkatan populasi bakteri petrofilik, bahkan terjadi penurunan pada aplikasi dosis 1% *A. Chroococcum* terhadap total bakteri petrofilik.

**Tabel 4** Pengaruh Jenis Petrofilik dan dosis *Azotobacter chroococcum* terhadap Populasi Akhir Bakteri Petrofilik

Perlakuan	Populasi Bakteri Petrofilik (10 <sup>7</sup> CFU/g)
Petrofilik (A)	
a <sub>0</sub> = Tanpa petrofilik	5,01 a
a <sub>1</sub> = 2 % isolat bakteri petrofilik	5,89 a
<i>Azotobacter chroococcum</i> (B)	
b <sub>0</sub> =Tanpa <i>Azotobacter chroococcum</i>	5,57 a
b <sub>1</sub> =0,5 % <i>Azotobacter chroococcum</i>	5,23 a
b <sub>2</sub> = 1 % <i>Azotobacter chroococcum</i>	5,44 a
b <sub>3</sub> = 1,5 % <i>Azotobacter chroococcum</i>	5,79 a

Keterangan: Nilai rata-rata yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji Lanjut Jarak Berganda Duncan pada taraf 5 %. Angka yang tidak diberi notasi huruf, tidak dilakukan Uji Lanjut Jarak Berganda Duncan karena tidak berbeda nyata berdasarkan analisis ragam pada taraf 5 %.

Hasil analisis menunjukkan bahwa penambahan bakteri petrofilik tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap peningkatan populasi bakteri petrofilik. Namun ada indikasi potensi peningkatan populasi bakteri petrofilik meskipun peningkatannya tidak signifikan. Indikasi adanya potensi peningkatan populasi bakteri petrofilik diakibatkan bakteri petrofilik berpotensi mampu beradaptasi pada kondisi tercekam limbah minyak bumi sehingga mampu mengubah senyawa hidrokarbon menjadi sumber karbonnya (Van Eyk, 1997). Sedangkan menurut jumlah total mikroorganisme tanah menurun dari 10<sup>4</sup> CFU/g menjadi 10<sup>3</sup> CFU/g, lalu menjadi 10<sup>2</sup> CFU/g setelah oksidasi kimiawi polutan minyak bumi di dalam tanah menggunakan 5

persen hidrogen peroksida dan persulfat selama 10 hari. Bakteri akan terus berkembang secara perlahan selama 10 hari berikutnya (Sui *et al.*, 2021) 15].

Aplikasi *A. chroococcum* tidak berpengaruh nyata terhadap perubahan populasi bakteri petrofilik. Hal ini dapat terjadi akibat pH tanah awal yang agak asam setelah adanya limbah minyak bumi menjadi basa, hal ini dapat mempengaruhi aktivitas *A. chroococcum* untuk menambat N dan untuk menghasilkan biosurfaktan, sehingga tidak memberi kontribusi penyediaan Nitrogen yang cukup bagi petrofilik, sehingga tidak dapat meningkatkan total populasi bakteri petrofilik, dan kemungkinan laian adanya persaingan antara bakteri petrofilik.

Munir (2012) menyatakan bakteri penambat nitrogen mampu meningkatkan aktivitasnya pada kondisi lingkungan optimum yaitu pH sekitar 6,5 atau netral. Demikian juga produksi biosurfaktan dengan kualitas tinggi dapat di produksi pada kondisi pH netral (Suryatmana, 2006). Selain hal itu, tidak adanya peningkatan populasi bakteri petrofilik akibat penambahan *A. chroococcum* juga dapat diakibatkan adanya persaingan dalam memanfaatkan sumber nutrisi antara *Azotobacter chroococcum* dengan bakteri Petrofilik yang ditambahkan.

Akibat rendahnya kelarutan hidrokarbon mengakibatkan tidak tersedia sumber karbon bagi bakteri petrofilik. Sumber karbon tersedia bagi mikroorganisme petrofilik yang cenderung menurun juga mengakibatkan terjadinya persaingan antara bakteri petrofilik. Dan *A. Chroococcum*, karena antar komunitas mikroba membutuhkan karbon yang cukup (Nugroho, 2006) untuk mendukung aktivitasnya, sehingga sumber karbon yang minim tidak mampu meningkatkan populasi bakteri petrofilik.

### 3.5 Total Populasi Akhir *Azotobacter*

Berdasarkan hasil analisis ragam menunjukkan bahwa tidak terjadi pengaruh

nyata dari efek interaksi antara jenis petrofilik dan dosis *A. chroococcum* terhadap peningkatan total populasi akhir *Azotobacter*. Namun terjadi pengaruh nyata dari efek mandiri dosis *A. chroococcum* terhadap peningkatan total populasi *Azotobacter*., data ditampilkan pada Tabel 5.

**Tabel 5** Pengaruh Jenis Petrofilik dan Dosis *A. chroococcum* terhadap Populasi *Azotobacter*.

Perlakuan	Populasi <i>Azotobacter</i> (10 <sup>9</sup> CFU/g)
Petrofilik (A)	
a <sub>0</sub> = Tanpa petrofilik	1,18
a <sub>1</sub> = 2 % isolat bakteri petrofilik	1,33
<i>Azotobacter chroococcum</i> (B)	
b <sub>0</sub> = Tanpa <i>Azotobacter chroococcum</i>	1,36 a
b <sub>1</sub> = 0,5 % <i>Azotobacter chroococcum</i>	1,34 a
b <sub>2</sub> = 1 % <i>Azotobacter chroococcum</i>	1,43 b
b <sub>3</sub> = 1,5 % <i>Azotobacter chroococcum</i>	1,49 b

Keterangan: Nilai rata-rata yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji Lanjut Jarak Berganda Duncan pada taraf 5 %. Angka yang tidak diberi notasi huruf, tidak dilakukan Uji Lanjut Jarak Berganda Duncan karena tidak berbeda nyata berdasarkan analisis ragam pada taraf 5 %.

Hasil analisis menunjukkan bahwa pada penambahan jenis petrofilik tidak memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap peningkatan populasi *Azotobacter* spp. Hal ini diakibatkan karena bakteri petrofilik hanya mampu mendegradasi substrat untuk kebutuhannya sehingga tidak menghasilkan metabolit yang dapat digunakan oleh *A. chroococcum*. Menurut Qomarudin *et. al.* (2008) populasi bakteri yang terdapat pada tanah terkontaminasi hidrokarbon memiliki kapasitas metabolit yang terbatas dan tidak toleran terhadap fluktuasi perubahan substrat dan belum mampu memanfaatkan substrat yang ada, akibatnya tidak terjadinya transformasi dari hidrokarbon berupa senyawa-senyawa antara selama waktu percobaan yang dibutuhkan oleh *Azotobacter*.

Berdasarkan hasil analisis menunjukkan bahwa pemberian 0,5% *A. chroococcum* belum mampu meningkatkan populasi *Azotobacter* spp. secara nyata dibandingkan dengan kontrol. Sedangkan pemberian 1% dan 1,5% *A. Chroococcum* dapat meningkatkan kepadatan populasi *A. chroococcum* secara nyata dibandingkan perlakuan kontrol dan perlakuan 0,5% *A. Chroococcum*. Hal ini disebabkan karena kepadatan awal *A. chroococcum* ( $10^7$  cfu ml<sup>-1</sup>) yang diberikan belum mencukupi bagi inokulan untuk bertahan di lingkungannya. Menurut Alexander (1977) rata-rata populasi bakteri tanah adalah  $10^8$ - $10^9$  CFU/ g tanah, aktinomicetes  $10^4$ - $10^8$  CFU/ g tanah, dan jamur  $10^5$ - $10^8$  CFU/ g tanah. Sehingga dengan kepadatan inokulan yang diberikan rendah maka mikroba indigenus (diantaranya *Azotobacter* indigenus) mendominasi media tanah percobaan, karena mampu teradaptasi lebih baik daripada *Azotobacter chroococcum* yang ditambahkan (diaugmentsi).

#### 4. KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan terjadi peningkatan pH tanah setelah tanah dikontaminasi lumpur minyak bumi dari pH 5,85 menjadi kisaran 8,0-9,10, Selanjutnya pH menurun selama proses bioremediasi berlangsung menjadi kisaran 6,67 – 6,73, namun tidak ada perbedaan nyata dari nilai pH antar perlakuan. Aplikasi *A.chroococcum* dan bakteri petrofilik dapat meningkatkan nilai efisiensi biodegradasi Hidrokarbon minyak bumi secara nyata dibandingkan kontrol, tetapi tidak berbeda nyata antar perlakuan *A. chroococcum* maupun bakteri petrofilik. Perlakuan *A. chroococcum* dosis 1% dan 1,5% dapat meningkatkan kepadatan populasi *Azotobacter* spp, secara signifikan. Sedangkan aplikasi *A. chroococcum* maupun bakteri petrofilik meningkatkan populasi bakteri petrofilik namun tidak nyata nilai peningkatannya. Bakteri petrofilik dan *A chroococcum* secara signifikan efektif dalam

meningkatkan nilai efisiensi biodegradasi dibandingkan control (tanpa inokulasi *A. chroococcum* maupun bakteri petrofilik)

#### DAFTAR PUSTAKA

- Asri, A.C., dan Zulaika, E. 2016. Sinergisme antar isolat *Azotobacter* yang dikonsorsiumkan. Jurnal Sains dan Seni ITS. 5(2): 2337-3520.
- Boto, M. L., Magalhaes, C., Perdigao, R., Alexandrino, D. A. M., Fernandes, J.P., Bernabeu, A. M., Ramos, S., Carvalho, M.F., Semedo, M., LaRoche, J., Almeida, C.M.R., Mucha, A. P. 2021. Harnessing the potential of native microbial communities for bioremediation of oil spills in the Iberian Peninsula NW Coast. Front. Microbiol, 12: 633659.
- Cookson, J. T. 1995. Bioremedition Engineering: Design dan Application. Mc Graw – Hill. Inc. New York.
- Das, N., P. and Chandran. 2011. Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: An overview. Biotechnol. Res. Int. 10: 1–13.
- Dzionic, A., Wojcieszynska, D., & Guzik, U. 2016. Natural carriers in bioremediation: a review. Electronic Journal of Biotechnology, 23: 28 – 36.
- Effendi, A.J., 2006. Treatibility test of oil-contaminated soil using bio-augmented bacteria. Jurnal Infrastruktur dan Lingkungan Binaan, 2(2):41-47.
- Gomez, K. A, A.A. Gomez. 1995. Prosedur Statistik untuk Penelitian Pertanian. Jakarta: Universitas Indonesia Press. Edisi Kedua.
- Gonzales, M. & Aranda, B. 2023. Microbial growth under limiting conditions- future perspectives. Microorganism, 11(7): 1641.
- Hardjowigeno, S. 2010. Ilmu Tanah. Akademika Pressindo.
- Hindersah, R dan T. Simarmata. 2004. Potensi rizobakteri *Azotobacter* dalam

- meningkatkan kesehatan tanah. *J. Nature Indonesia*. 5: 127 – 133.
- Indawan, E., Ahmadi, Kgs. dan Novitawati, R.A.D. 2012. Komposisi mangrove pada lahan tercemar BTEX dan logam berat. *Jurnal Natur Indonesia*, 14(3):212-218.
- Kebede, G., Tafese, T., Abda, E. M., Kamaraj, M., Assefa, F. 2021. Factors influencing the bacterial bioremediation of hydrocarbon contaminants in the soil: mechanisms and impacts. *Journal of Chemistry*, 2021(1), 9823362.
- Liu, H., M. Wu., M. Zhang., H. Gao., Z. Yan., and Z. Yang. 2023. New insight into the effect of nitrogen on hydrocarbon degradation in petroleum-contaminated soil revealed through <sup>15</sup>N tracing and flow cytometry. *Science of The Total Environment*. 891(15): 164409.
- Munawar. 2012. Biodegradasi Tanah Terkontaminasi Minyak Bumi oleh Konsorsium Bakteri Petrifik, Penambat Nitrogen dan Pelarut Fosfat (Disertasi). Bandung. ITB
- Nugroho, A. 2006. Biodegradasi sludge minyak bumi dalam skala mikrokosmos. *Makara Teknologi*, 10 (2): 82-89.
- Omoni, V. T., Bankole, P. O., Semple, K.T., Ojo, A. S., Ibeto, C., Okekporo, S.E., Harrison, I. A. 2024. Enhance remediation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil through fungal delignification strategy and organic waste amendment: a review. *Indian Journal of Microbiology*, 65: 775 - 797.
- Pacwa, M., Grazyna., P. S. Zofia., S. C. Swaranjit. 2011. Environmental Applications of Biosurfactants; Recent Advances. *J. Mol. Sci*. 12: 633-654.
- Qomarudin, H., P. Suryatmana., E. Kardena., N. Funamizu., Wisjnuprpto. 2008. Biosurfaktan production from *Azotobacter* sp. and its application in biodegradation of petroleum hydrocarbon. *Journal of Applied and Industrial Bioteknologi in Tropical Region*. 1: 1979-9784.
- Qiu, Y.W., Zhang, G., Liu, G.Q., Guo, L.L., Li, X.D., dan Wai, O., 2009. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the water column and sediment core of deep bay, South China. *Estuarine, Coastal & Shelf Science*, 83:60–66.
- Senko, J. M., B. S. Campbell, B. S., J. R. Henriksen., M.S. Elshahed., T. A. Dewers., and L.R. Krumholz. 2004. Barite deposition resulting from phototrophic sulfide-oxidizing bacterial activity. *Geochim. Cosmochim. Acta*. 68: 773–780.
- Setyowati C, 2008. Studi Penurunan *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH) pada *Oil Sludge* dengan *Composting Bioremediation*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Suharni. 2008. *Mikrobiologi Umum*. Yogyakarta: Universitas Atma Jaya Yogyakarta press.
- Sui, X., X. Wang., Y. Li., and H. Ji. 2021. Remediation of Petroleum-Contaminated Soils with Microbial and Microbial Combined Methods: Advances, Mechanisms, and Challenges. *Sustainability*. 13: 9267.
- Suryatmana, P. 2006. Biodegradasi hidrokarbon minyak bumi dengan penambahan *Azotobacter chroococcum* AC04 sebagai bakteri penghasil biosurfaktan. Disertasi Institut Teknologi Bandung.
- Suryatmana, P., E. Kardena, E. Ratnaningsih., Wisjnuprpto. 2007. Improving the effectiveness of crude-oil hydrocarbon biodegradation employing *Azotobacter chroococcum* as co-inoculant. *Microbiology Indonesia*. 153: 5-10.
- Udiharto, M. 1999. Penanganan minyak buangan secara bioteknologi. Makalah Seminar Sehari Minyak dan Gas Bumi. LEMIGAS. Jakarta
- Van Eyk, J. 1997. Petroleum Bioventing. BALKEMA. Rotterdam-Brookfield.
- Vermani, M. V., S.M. Kelkar., M. Y. Kramat. 1997. Studies in polysaccharide production and growth of *Azotobacter vielandii* MTCC 2459, a plant rhizosfir Isolate. *The Society for Applied Bacteriology*,

Letters in Applied Microbiology. 24:  
379 – 383.

Velacano, M., A. Castellano Hinojosa, A. F. Vivas,  
M.V.M. Toledo. 2014. Effect of Heavy  
Metals on the Growth of Bacteria  
Isolated from Sewage Sludge  
Compost Tea. Adv. Microbiol. 4: 644–  
655.