

# KAJIAN STASISTIK TERHADAP NUTRIEN ORGANIK DAN ANORGANIK UNTUK *IN SITU* TES BIOREMEDIASI TUMPAHAN MINYAK DENGAN METODE BIOSTIMULASI DI LINGKUNGAN PANTAI

**Munawar Ali**

Staf Dosen Teknik Lingkungan UPN "Veteran" Jatim

## ABSTRAK

Papar ini menyajikan hasil penelitian tentang pengaruh penambahan nutrient pada proses bioremediasi tumpahan minyak mentah di lingkungan pantai dengan pendekatan statistik. Dengan melihat efektifitas pengaruh penambahan jenis nutrien organik dan anorganik pada metoda biostimulasi. Preparasi penelitian ini menggunakan *tes in-situ* dengan membagi beberapa petak dengan ukuran  $0,5 \times 0,5 \text{ m}^2$ , selanjutnya dibuat simulasi penambahan nutrien organik. Setiap petak dituangkan minyak sebanyak 1 liter/ $\text{m}^2$ , setelah 3hari kemudian ditambahkan nutrient yang divariasikan (0,2 ; 0,3; 0,4 kg/kg tanah ). Hasil yang didapat menunjukkan nurien organik lebih baik dan cukup signifikan untuk menstimulasi pertumbuhan mikroba.

## ABSTRAC

The purpose of this paper is to present effects of nutrients in the bioremediation process of spilled crude oil in a coastal environment by statistical annalysis. An emphasis is directed at looking at effectiveness of organic and inorganic - based nutrients in that process using a method of bio-stimulation. An in-situ test was undertaken in a coastal area, by making multiple trial compartments, with a size of  $0.5 \times 0.5 \text{ m}^2$  each; and the space between the compartments. At every compartment, one liter of crude oil was spilled. Three days later, it was added with organic and inorganic-based nutrient on the treatment (0.2; 0.3 and 0.4 kg/kg soil), where possitif respounce by added organic nutrient for stimulated microbial growth.

*Keyword.* statistical analysiss , bioremediation , biostimulaton, oil spills

## PENGANTAR

Bioremediasi adalah salah satu teknologi alternatif yang mampu memperbaiki secara permanen lokasi yang tercemar tanpa mendatangkan masalah baru (Sims dkk., 1990 dalam Gogoi dkk., 2003). Bioremediasi merupakan cara untuk mempercepat penguraian polutan minyak secara alami, dan oleh karenanya merupakan solusi ramah lingkungan bagi permasalahan polutan minyak. Ada dua pendekatan yang digunakan untuk bioremediasi. *Pendekatan Pertama* berkaitan dengan kapasitas metabolik dari populasi mikroba asli. Bioremediasi tipe ini disertai dengan modifikasi lingkungan, misalnya melalui aerasi atau penggunaan pupuk, untuk mengatasi faktor-faktor yang membatasi laju biodegradasi yang dilakukan oleh mikroba asli. Pendekatan ini juga sering

disebut sebagai biostimulasi. Pada *pendekatan kedua*, atau yang lazim disebut bioaugmentasi, populasi mikroba tertentu ditambahkan ke lokasi yang terkontaminasi tumpahan minyak. Kultur biakan dipilih berdasarkan aktifitas penguraian hidrokarbonnya (Atlas, 1995). Meskipun teknik bioremediasi belum terlihat efektif untuk menangani pencemaran minyak pada perairan terbuka, tetapi metode ini efektif untuk membersihkan tumpahan minyak pada lingkungan pantai (Munawar dan Mukhtasor, 2005). Cookson (1995) menyatakan bahwa rancangan bioremediasi memerlukan estimasi jumlah zat (termasuk nutrient) yang harus diberikan ke bioreaktor atau ke bawah-permukaan laut atau ke tanah untuk *in situ treatment*. Perhitungan ini menjadi dasar bagi penentuan ukuran fasilitas-fasilitas proses, seperti

perpipaan, pompa, kontrol emisi, penyimpanan bahan kimia yang digunakan, dan biaya. Jumlah total dan laju pemberian (*rate of delivery*) zat ini diproyeksikan sebagai penerima elektron, pemberi elektron, substrat primer, kontrol pH, dan penambahan nutrient. Semua reaksi biologis yang menghasilkan energi merupakan reaksi redoks (Cookson, 1995). Dalam hal ini, oksidasi senyawa organik kontaminan akan membebaskan sejumlah elektron. Oleh karena itu, senyawa organik ini sering disebut sebagai pemberi elektron (*electron donor*). Oleh karena itu, dalam proses bioremediasi, harus tersedia senyawa yang akan menerima elektron ini (*electron acceptor*) dalam jumlah yang cukup dan tipe yang sesuai. Beberapa penerima elektron yang lazim dikenal adalah oksigen, nitrat, sulfat, karbon dioksida, dan sejumlah senyawa organik .

Tujuan penulisan ini adalah untuk menyajikan desain percobaan di lapangan dan hasil awal bioremediasi tanah di wilayah pesisir pantai yang terkontaminasi tumpahan minyak mentah (*crude oil*)

## KAJIAN PUSTAKA

Tumpahan minyak yang terjadi di perairan bisa mengakibatkan pencemaran di daerah pesisir. Hal ini karena pesisir merupakan daerah di tepi laut yang masih mendapat pengaruh laut seperti pasang surut, angin laut, dan perembesan air laut (Triatmodjo, 1999). Tumpahan minyak dan tumpahan yang terbawa bersama arus pasang dapat terpenetrasi dan terakumulasi di dalam tanah (Pezeshki dkk., 2000). Pezeshki dan Delaune (1993) dalam Pezeshki dkk. (2000), melaporkan pengaruh pencemaran minyak pada makrofita yang hidup di pesisir US Gulf. Mereka menyatakan bahwa minyak dapat menyebabkan tertutupnya lapisan daun,

terhambatnya jalur transpirasi, dan berkurangnya fotosintesis daun.

Untuk mengatasi tumpahan minyak tersebut, telah ditempuh banyak metode, baik metode fisika, kimia, maupun bioremediasi. Metode fisika memiliki beberapa kelemahan seperti banyaknya tenaga manusia yang dibutuhkan untuk membuang minyak secara manual (Hozumi dkk., 2000), pembakaran polutan yang menyebabkan polusi udara (Gogoi dkk., 2003), atau matinya tumbuh-tumbuhan pesisir akibat aktifitas pengumpulan minyak (Kiesling dkk., 1988; OTA, 1990; Owens dkk., 1993a dalam Pezeshki dkk., 2000). Hal serupa juga terjadi pada metode kimia. Zat-zat kimia yang digunakan untuk menanggulangi tumpahan minyak seringkali jauh lebih beracun daripada minyak itu sendiri (Burrige dan Shir, 1995 dalam Wrabel dan Peckol, 2000).

Metode bioremediasi merupakan cara penanggulangan tumpahan minyak yang paling aman bagi lingkungan (Prince dkk., 2003). Selain itu, metode ini juga bisa dipadukan dengan metode fisika maupun kimia (Boopathy, 2000). Ada dua pendekatan yang dapat digunakan dalam bioremediasi tumpahan minyak: (1) *bioaugmentasi*, di mana mikroorganisme pengurai ditambahkan untuk melengkapi populasi mikroba yang telah ada, dan (2) *biostimulasi*, di mana pertumbuhan pengurai hidrokarbon asli dirangsang dengan cara menambahkan nutrisi dan/atau mengubah habitat ( Venosa & Zhu, 2003). Dalam banyak penelitian lapangan, metode bioaugmentasi terbukti kurang efektif, mengingat kondisi isolasi bakteri yang tidak sama dengan kondisi lapangan. Sebaliknya, banyak penelitian laboratorium maupun lapangan yang menunjukkan keberhasilan biostimulasi. Hanya saja, dalam metode biostimulasi ini, kondisi dan komposisi pemupukan

yang paling optimal masih belum ditemukan. Mengenai jumlah nutrien yang harus ditambahkan, misalnya, hanya ada sedikit kesepakatan di antara para peneliti (Head & Swannel, 1999). Bahkan, jenis nutrien yang paling tepat untuk ditambahkan pun masih menjadi pertanyaan besar bagi para peneliti. Kebanyakan mereka menyatakan bahwa jenis dan konsentrasi nutrien optimal sangat bervariasi tergantung properti minyak dan kondisi lingkungan (Venosa & Zhu, 2003). Penentuan komposisi, konsentrasi, dan metode pemupukan optimal untuk bioremediasi pencemaran minyak bumi di daerah pesisir merupakan permasalahan yang akan dicari penyelesaiannya dalam penelitian ini.

Guna memperkirakan jumlah nutrient yang harus diberikan maka perlu dilakukan langkah-langkah estimasi. Dasar estimasi adalah bahwa untuk sejumlah tertentu kontaminan per massa tanah atau per volume air-tanah, kuantitas total zat-zat yang bereaksi dapat dihitung dari reaksi kesetimbangan. Meskipun estimasi sering didasarkan pada perbandingan reaktan tipikal, penulisan reaksi kesetimbangan perlu dilakukan. Penulisan ini perlu dilakukan mengingat, *pertama*, perbandingan-tipikal reaktan pada proses bioremediasi seringkali tidak diketahui. *Kedua*, estimasi jumlah by-product, seperti CO<sub>2</sub>, selama bioventing (optimasi bioremediasi dengan pemberian udara) seringkali dibutuhkan. *Ketiga*, perbandingan reaktan bervariasi menurut model metabolis yang dipilih dan sifat-sifat nutrient yang diberikan. Akhirnya, kemampuan untuk mengembangkan persamaan stoikiometri akan memberikan pemahaman mengenai perbedaan antara studi kelayakan (*treatability*) di laboratorium dan respon di lapangan. Perbedaan ini bisa disebabkan oleh kebutuhan oksigen

alami, underestimasi terhadap beban organik asli, atau laju pemakaian yang rendah yang dapat diakibatkan oleh rendahnya distribusi suplemen (Cookson, 1995).

Estimasi kebutuhan proses terdiri dari beberapa langkah. Pertama, data lapangan mengenai jenis dan konsentrasi kontaminan serta nutrient yang telah tersedia harus dicari. Langkah berikutnya adalah mengubah data lapangan tersebut menjadi massa kontaminan. Perhitungan ini tergantung dengan tingkat akurasi yang diinginkan dan ketersediaan data lapangan. Bila massa kontaminan telah diestimasi, langkah berikutnya adalah mengembangkan reaksi kimia yang terlibat dalam proses bioremediasi (Cookson, 1995). Melalui reaksi kimia inilah nantinya akan diketahui perbandingan mol akseptor elektron dan nutrient yang dibutuhkan.

Pengembangan persamaan stoikiometri dalam penguraian senyawa-senyawa organik menggunakan prinsip-prinsip persamaan reaksi redoks. Dalam hal ini, reaksi total harus meliputi oksidasi senyawa organik, reduksi penerima elektron, dan reaksi nutrient untuk pertumbuhan sel. Ada empat akseptor elektron dan dua bentuk nitrogen yang umum untuk nutrient. Reaksi overall dapat diberikan dalam bentuk umum sebagai



di mana

- $H_D$  = setengah-reaksi untuk oksidasi senyawa organik, donor elektron
- $H_A$  = setengah-reaksi untuk akseptor elektron
- $C_s$  = reaksi yang menyediakan kebutuhan nutrient bagi sintesis biomassa
- $f_e$  = fraksi senyawa organik yang dioksidasi sehingga menghasilkan energi

$f_s$  = fraksi yang terdapat pada saat konversi menjadi sel-sel mikroba,  $f_e + f_s = 1$

Untuk sistem aerobik, faktor  $f_e$  untuk distribusi energi ditemukan antara 0,12 dan 0,6. Bila reaksi semakin lambat (semakin sulit komponen untuk diuraikan), maka nilai  $f_e$  semakin kecil. Fraksi energi bagi sintesis sel dalam sistem anaerobik lebih rendah daripada sistem aerobik. Jadi jumlah biomassa yang dihasilkan amat sedikit.

Setengah Reaksi untuk Beberapa Reaksi Redoks Organik (McCarty, 1987 dalam Cookson, 1995) yang terjadi yaitu :

1. Reaksi Oksidasi (Setengah reaksi donor elektron -  $H_D$ )

Bentuk Umum Reaksi Oksidasi  
 $1/Z(C_aH_bO_cN_d) + (2a - c/Z)(H_2O) =$   
 $a/Z(CO_2) + d/Z(NH_3) + H^+ + e^-$  (2)

dimana  $Z = 4a + b - 2c - 3d$ ; a, b, c, dan d menunjukkan jumlah rata-rata atom untuk C, H, O, dan N dalam kontaminan organik

2. Reaksi reduksi akseptor elektron (Setengah reaksi akseptor elektron  $\sim H_A$ )  
 Dapat berbentuk persamaan reaksi sebagai berikut :

1.  $1/4O_2 + H^+ + e^- = 1/2H_2O$  (3)
2.  $1/6NO_3^- + H^+ + 5/6e^- = 1/12N_2 + 1/2H_2O$  (4)
3.  $1/8SO_4^{2-} + H^+ + e^- = S^{2-} + 1/2H_2O$  (5)
4.  $1/8CO_2 + H^+ + e^- = 1/8CH_4 + 1/4H_2O$  (6)

dimana reaksi bentuk 1 adalah respirasi oksigen yang terjadi bila proses berlangsung secara aerobik. Sedangkan untuk 2, 3, dan 4 terjadi bila proses berlangsung secara anaerobik

3. Reaksi sintesis sel -  $C_s$

Persamaan reaksi

1.  $1/4CO_2 + 1/20NH_3 + H^+ + e^- =$   
 $1/20C_5H_7O_2N + 2/5H_2O$  (7)

2.  $5/28CO_2 + 1/28NO_3^- + 29/28H^+ + e^- =$   
 $1/28C_5H_7O_2N + 11/28H_2O$  (8)

dimana untuk reaksi 1. Menggunakan ammonia sebagai sumber nitrogen, dan reaksi 2. Menggunakan nitrat sebagai sumber nitrogen. Komposisi struktur seluler:  $C_5H_7O_2N$ . Kebutuhan P:1/6 kebutuhan terhadap N

## PENELITIAN SEBELUMNYA

Banyak penelitian yang telah dilakukan berkaitan dengan biostimulasi baik di daerah pantai maupun pesisir pantai. Santas dkk. (1999), misalnya, telah meneliti penggunaan pupuk *oleofilik* dan *slow release*. Untuk tipe *oleofilik*, pupuk yang digunakan adalah Inipol EAP-22 (mengandung asam oleat, lauryl fosfat, 2-butoksi-1-etanol, urea, dan air, dengan C:N:P = 62:5:1), sementara untuk tipe *slow release*, yang dipakai adalah F1 (modifikasi daging ikan dengan C:N:P = 24:18:3,5). Hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan bahwa, dalam hal biodegradasi hidrokarbon minyak bumi, F1 adalah pupuk yang paling efektif dan cepat bereaksi. F1 mengandung lebih banyak nitrogen dan fosfor dalam setiap unit massanya daripada pupuk daging ikan lainnya. Pupuk semacam ini mengandung banyak sekali senyawa protein, lemak, dan karbohidrat. Sebaliknya, biodegradasi alkana dengan menggunakan Inipol EAP-22, suatu pupuk sintetik, tidaklah begitu berhasil. Karena Inipol tidak mengandung protein, maka nutrisi yang dimilikinya rendah. Akibatnya, kemampuan mikroba untuk mengurai hidrokarbon juga semakin rendah.

Sementara itu, Wrabel dan Peckol (2000), melakukan eksperimen laboratorium untuk mempelajari efektifitas pemakaian nutrisi (N dan P) pada populasi mikroba laut asli sebagai teknik bioremediasi untuk merespon tumpahan minyak di

sepanjang pantai Atlantik Utara sebelah barat yang beriklim sedang. Pemakaian nutrient (N dan P) sebagai teknik bioremediasi akan mengatasi pengaruh racun minyak pada alga coklat *F. vesiculosus* tanpa mengakibatkan peningkatan pertumbuhan makroalga. Analisis sampel dengan menggunakan kromatografi gas menunjukkan adanya penguraian minyak yang lebih besar oleh mikroba pada lingkungan yang diperkaya nutrient bila dibandingkan dengan lingkungan yang tidak diperkaya nutrient.

Prince dkk. (2003) menunjukkan bahwa pemakaian pupuk *slow-release* dan pupuk larut terbukti menjadi cara yang efektif dan ramah lingkungan dalam menstimulasi biodegradasi minyak pada suatu Pantai Arktik (pantai di daerah kutub utara). Pemakaian pupuk pada permukaan pantai akan memberikan nutrient pada sedimen di bawah permukaan pantai yang tercemari minyak. Pemakaian pupuk akan diikuti oleh peningkatan konsumsi oksigen, evolusi karbon dioksida, biomassa mikroba, dan meningkatkan secara signifikan biodegradasi minyak.

Untuk mempelajari bioremediasi pada tanah, khususnya tanah pertanian, Barahona dkk. (2004) melakukan penelitian terhadap pengaruh penambahan nutrient dan limbah pertanian, yaitu batang jagung atau daun tebu, untuk menstimulasi mikroflora *autochthonous* dalam menguraikan hidrokarbon. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa limbah jagung mampu menstimulasi penguraian hidrokarbon oleh mikroflora *autochthonous* dengan lebih baik daripada limbah gula. Hal ini karena limbah pertanian memiliki komposisi, kandungan, dan struktur serat yang spesifik. Telah diketahui bahwa kandungan selulosa, hemiselulosa, lignin dan protein dalam residu pertanian mempengaruhi laju dekomposisi awal

dari hidrokarbon (Vanlauwe dkk., 1994 dalam Barahona dkk., 2004). Kandungan lignin dan rasio nitrogen dalam limbah pertanian menjadi faktor penting yang mengatur pertumbuhan dan aktifitas mikroorganisme (Cookson dkk., 1998). Limbah pertanian juga memberikan kontribusi dalam meningkatkan difusi oksigen dan ketersediaan nutrient mineral (Van Loosdrecht dkk., 1990; Elektorowicz, 1994; Pehler dkk., 1999 dalam Barahona dkk., 2004), juga kualitas sumber karbon dan permukaan untuk adsorpsi bakteri (Piehler dkk., 1999 dalam Barahona, 2004). Oleh karena itu, limbah pertanian mampu meningkatkan karakteristik fisiokimia tanah untuk mempercepat adaptasi dan seleksi mikroba (Jorgensen dkk., 2000 dalam Barahona dkk., 2004).

Sementara itu Pelletier dkk. (2004), yang melakukan penelitian bioremediasi minyak mentah pada sediment intertidal sub-Antartika, menunjukkan bahwa pupuk kompos tulang ikan yang dilengkapi dengan urea, fosfor anorganik, dan surfaktan lipidik terbukti mampu menguraikan hidrokarbon minyak bumi secara efektif dalam waktu tiga bulan. Bahkan campuran tersebut jauh lebih efektif daripada INIPOL, suatu pupuk urea. Dua penelitian ini (Barahona dkk., 2004 dan Pelletier dkk., 2004) membuktikan bahwa pupuk organik (kompos) terbukti efektif dalam menguraikan minyak pencemaran baik di sediment laut maupun di daratan.

## **METODE PENELITIAN**

### *Dasar Pemilihan Konsentrasi Tumpahan Minyak*

1. Kasus tumpahan minyak akibat kebocoran casing sumur minyak yang terletak di dekat selat Makassar, tepatnya di Blok Ranggas, Tanjung Santan, Kalimantan Timur. Pada peristiwa ini terdeteksi adanya lapisan

tipis hidrokarbon di permukaan laut dan pesisir pantai (0,1%) pada luasan 27 x 19 mil atau sekitar 1.300 km<sup>2</sup> (Kompas, 28 September 2002). Setelah mengalami proses penguraian fisik, seperti disolusi, penguapan, dispersi, maupun pengendapan (Reed, 1989), maka Cookson (1995) memperkirakan bahwa konsentrasi tipikal minyak bumi pada tanah adalah sekitar 7000 ppm. Nilai ini setara dengan 0,1008 kg tumpahan minyak/m<sup>2</sup> bila ketebalan pencemaran 1 cm.

2. Kebocoran perpipaan minyak Continental Pipeline yang terletak di dekat Crosswicks, New Jersey, Amerika Serikat (Dibble dan Bartha, 1979). Pada peristiwa tersebut, tertumpah minyak bumi sebanyak 1,9 juta liter (sekitar 1,3 juta kg) dan mencemari tanah seluas 1.5 ha sehingga rata-rata pencemaran adalah 126,67 liter/m<sup>2</sup>.
3. Swannel dkk. (1995) melakukan simulasi pencemaran minyak pada daerah pantai dengan konsentrasi tumpahan sebesar 3,7 kg/m<sup>2</sup>.
4. Dengan mempertimbangkan nilai-nilai di atas, maka dipilih konsentrasi polutan 1 liter per petak. Artinya, konsentrasi ini masih berada dalam kisaran konsentrasi pencemaran yang pernah terjadi, baik dalam kenyataan di lapangan maupun dalam simulasi.

#### *Dasar Pemilihan Jenis Minyak yang Ditumpahkan*

Minyak yang digunakan adalah minyak mentah. Hal ini dilakukan dengan mempertimbangkan peristiwa-peristiwa tumpahan minyak, di mana sebagian besar yang tertumpah adalah minyak mentah.

#### *Penentuan Konsentrasi Penambahan Nutrien*

1. Dari hasil perhitungan diketahui bahwa kebutuhan N dan P berturut-turut adalah 0,12 kg dan 0,02 kg. Nutrient

yang dipakai mengandung N sebanyak 5,7% untuk pupuk organik dan 16% untuk anorganik (data spesifikasi produk). Dengan demikian kebutuhan pupuknya adalah 0,46 kg untuk pupuk organik dan 0,26 kg untuk pupuk anorganik. Akan tetapi tanah sendiri sudah mengandung N dan P yaitu masing-masing 6,28% dan 1,82%. Oleh karena itu, ditentukan pemakaian pupuk pada kisaran 0,2-0,4 kg per petak.

2. Selain mendasarkan pada perhitungan stoikiometris, penentuan konsentrasi pemupukan juga merujuk pada beberapa penelitian sebelumnya. Swannel dkk. (1995) melakukan bioremediasi pada pantai dengan menggunakan pupuk organik sebanyak 0,266-0,984 kg/m<sup>2</sup> (bandingkan dengan ukuran petak penelitian ini yang hanya 0,75 x 0,75 m). Wang dan Bartha (1989) menggunakan pupuk dengan konsentrasi 55 mg/cm<sup>2</sup>. Nilai ini setara dengan 0,55 kg/m<sup>2</sup>.

Dalam penelitian ini diberlakukan rancangan acak lengkap. Rancangan ini merupakan metode yang paling sederhana di antara rancangan-rancangan percobaan yang baku. Jika akan dilakukan sejumlah  $t$  perlakuan sebanyak  $n$  kali untuk setiap perlakuan, maka rancangan acak lengkap membutuhkan alokasi  $nt$  percobaan secara acak kepada  $nt$  satuan percobaan (Gaspersz, 1994). Dengan melakukan pengacakan, maka alokasi eksperimen maupun urutan eksperimen dilakukan secara acak. Metode statistika mensyaratkan agar observasi (atau galat) terdistribusi secara merata. Pengacakan menjadikan syarat ini terpenuhi (Montgomery, 2001).

Dalam penelitian ini ada beberapa faktor yang akan dipelajari: (1) jenis pupuk, (2) konsentrasi pemupukan, dan (3) pembalikan tanah. Pupuk yang akan digunakan memiliki komposisi N:P yang berbeda dan diberikan dalam 3 variasi konsentrasi: rendah, sedang, dan tinggi.

Semua pemupukan ini dilakukan dalam 2 metode yang berbeda yaitu dengan pembalikan tanah dan tanpa pembalikan tanah.

Jenis pupuk dibuat dalam 2 variasi (organik dan anorganik), konsentrasi pupuk dalam 3 variasi, dan perlakuan tanah dalam dua variasi. Jadi pada masing-masing komposisi dibuat 3 variasi konsentrasi, dan di dalam masing-masing konsentrasi ini dibuat 2 variasi perlakuan tanah. Sehingga jumlah variabel yang harus dibuat, di luar kontrol, adalah  $2$  (jumlah komposisi)  $\times$   $3$  (jumlah taraf konsentrasi)  $\times$   $2$  (jumlah perlakuan tanah) =  $12$  buah variabel. Dengan cara sama, variabel kontrol diperoleh sebanyak 2 buah. Jadi jumlah variabel secara keseluruhan adalah 14 buah.

Masing-masing perlakuan akan diulang sebanyak 3 kali. Jadi jumlah percobaan yang harus dilakukan adalah sebanyak 38 kali. Untuk itu dibutuhkan 38 satuan percobaan.

Percobaan akan dilakukan pada petak-petak percobaan berukuran  $0,5 \text{ m} \times 0,5 \text{ m}$ , di mana antara satu petak dengan petak yang lain terpisah pada jarak  $0,25$  meter. Hal ini merujuk pada penelitian yang dilakukan Delille dkk. (2004). Untuk meneliti pengaruh peningkatan suhu terhadap proses bioremediasi, mereka membagi lokasi penelitian ke dalam petak-petak berukuran  $0,75 \text{ m} \times 0,75 \text{ m}$ , di mana antara satu petak dengan petak lainnya terpisah pada jarak  $0,75$  meter



Gambar 1. Petak percobaan

Pada masing-masing petak (petak 1-38) akan diberikan 38 perlakuan. Penentuan perlakuan apa yang harus diberikan pada petak tertentu dilakukan secara acak. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak dua kali (*duplo*). Pengacakan dapat dilakukan dengan cara undian atau menggunakan tabel angka acak (Gaspersz, 1994).

Metode penentuan perlakuan seperti di atas memiliki beberapa kelebihan. *Pertama*, adanya pengacakan menjadikan percobaan sah secara statistik (Montgomery, 2001), karena analisis statistik mensyaratkan semua lokasi memiliki peluang yang sama untuk mendapatkan tiap perlakuan (Gaspersz, 1994). *Kedua*, metode pengacakan dengan menggunakan undian relatif sederhana dan mudah dilakukan bila dibandingkan dengan penggunaan tabel angka acak (Gaspersz, 1994). *Ketiga*, pengulangan sebanyak dua kali menjadikan ketelitian percobaan. Semakin banyak pengulangan, maka percobaan akan semakin teliti (Gaspersz, 1994; Montgomery, 2001), hanya tentu saja hal ini akan meningkatkan biaya penelitian.

#### *Metode pengacakan*

Pengacakan dilakukan dengan mengundi bilangan 1 sampai 38 untuk tiap-tiap petak. Bilangan yang muncul dalam undian menunjukkan nomor percobaan. Nomor percobaan inilah yang menunjukkan jenis perlakuan yang harus diberikan pada petak yang bersangkutan.

#### *Pengukuran respon*

Masing-masing petak setelah diberi tumpahan minyak mentah dibiarkan selama satu minggu, selanjutnya tiap petak diberi pupuk dengan konsentrasi sesuai dengan tabel perlakuan. Pengukuran kemudian dilakukan secara berkala dengan mengambil sampel tanah setiap petak dan dilakukan setiap 2

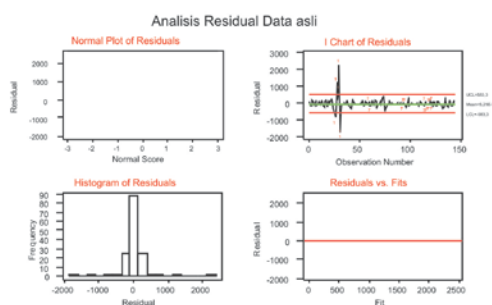
minggu selama dua bulan. Perubahan konsentrasi polutan minyak secara periodik merupakan respon percobaan yang akan dipelajari.

Analisis dilakukan terhadap kandungan senyawa hidrokarbon dari minyak mentah dan tidak semua jenis senyawa hidrokarbon akan diteliti, namun difokuskan pada senyawa Benzene, Toluene dan Xylene (BTX) pada masing-masing petak seperti gambar berikut. Untuk pengukuran respon telah dilakukan sampling sebanyak 3 kali. Hasil penelitian tersebut di uji dengan model statistik.

## HASIL UJI STATISTIK

Pada analisis varian, pengujian yang dilakukan valid jika memenuhi beberapa asumsi. Asumsi-asumsi tersebut adalah residual harus mempunyai sifat identik (varians homogen), independent dan berdistribusi Normal.

Pada kasus ini, setelah dilakukan pemeriksaan ternyata residual tidak memenuhi semua asumsi diatas. Hal ini tampak lebih jelas pada gambar berikut:



Gambar 2. Grafik analisis residual data asli

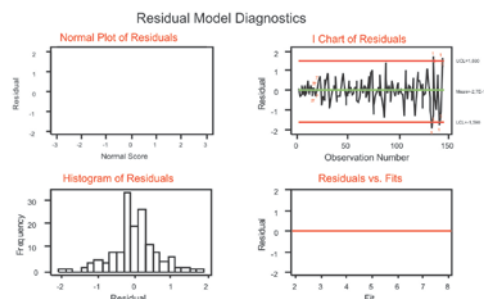
Dari gambar 2 diatas, dapat diidentifikasi sebagai berikut :

Residual berdistribusi normal jika (gb.a) membentuk garis lurus.(gb.a) menunjukkan plot normal tidak membentuk garis lurus shg dapat dikatakan residual tidak berdistribusi normal. Residual mempunyai sifat

independent jika dari plot autocorelasi (gb.b) tidak ada yang keluar dari batas. Dari gambar diatas, terlihat residual tidak independent karena ada yang keluar batas. Residual mempunyai sifat identik jika plot residual dan fits (gb.d) bersifat acak atau tidak membentuk pola. Dengan demikian dapat disimpulkan residual tidak identik karena plot residual dan fits (gb.d) tidak acak .

Jika asumsi pokok dalam analisis varian tidak terpenuhi, maka salah satu jalan keluar untuk mengatasi hal ini adalah melalui transformasi data. Melalui transformasi diharapkan kestabilan varian akan trpenuhi sehingga proses pengujian dapat mendekati kesahihan.

Pada data ini dilakukan transmata data tepatnya dengan transformasi logaritma. Selanjutnya akan diperiksa kembali apakah residual telah memenuhi asumsi-asumsi yang telah disebutkan diatas. Dari hasil pemeriksaan residual ternyata residual telah memenuhi semua asumsi. Plot normal membentuk garis lurus (gb.a) yang berarti residual berdistribusi normal, plot autocorelasi tidak ada yang keluar batas (gb.b) yang berarti residual memenuhi sifat independent dan plot residual vs fits (gb.d) bersifat acak yang berarti residual bersifat identik. Lebih jelasnya dapat dilihat pada gambar berikut :



Gambar 3. Residual model diagnostik

General Linear Model: logmikroba versus jenis; konsentrasi; pelakuan;

Factor	Type	Levels	Values
jenis	fixed	2	1 2



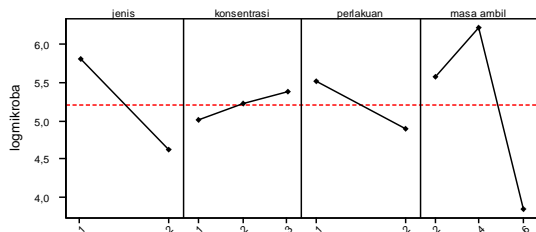
konsentrs fixed 3 1 2 3  
 perlakuan fixed 2 1 2  
 masa ambl fixed 3 2 4 6

Analysis of Variance for logmikro, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
jenis	1	51,3718	51,3718	51,3718	99,93	0,000
konsentrasi	2	3,2658	3,2658	1,6329	3,18	0,046
perlakuan	1	13,7646	13,7646	13,7646	26,78	0,000
masa ambil	2	143,1240	143,1240	71,5620	139,21	0,000
jenis	2	19,6742	19,6742	9,8371	19,14	0,000
perlakuan	1	11,3273	11,3273	11,3273	22,04	0,000
konsentr*	2	4,6833	4,6833	2,3417	4,56	0,013
masa ambil	4	29,4424	29,4424	7,3606	14,32	0,000
perlakua	2	6,7152	6,7152	3,3576	6,53	0,002
konsentr	2	18,3315	18,3315	9,1658	17,83	0,000
jenis	4	12,7594	12,7594	3,1898	6,21	0,000
masa ambil	2	4,1466	4,1466	2,0733	4,03	0,020
Error	108	55,5182	55,5182	0,5141		
Total	143	384,7156				

Dari analisis varians diatas semua faktor berpengaruh signifikan terhadap pertumbuhan mikroba (signifikan jika nilai  $p < 0,05$ ).

Main Effects Plot - Data Means for logmikroba

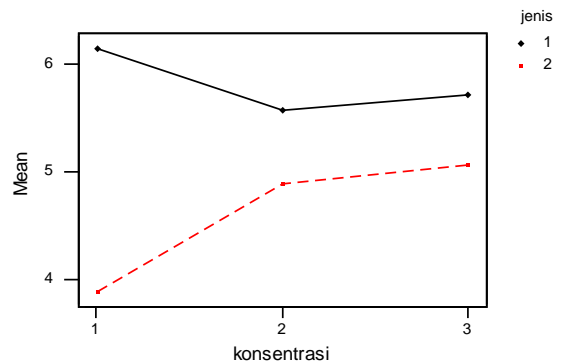


Gambar 3. Pengaruh nutrient terhadap pertumbuhan

Dari gambar 3 diatas terlihat Nutrien organik menghasilkan pertumbuhan mikroba yang jauh lebih besar dibanding nutrien anorganik. Semakin kecil konsentrasi semakin besar pertumbuhan mikroba, sedang perlakuan dengan pembalikan tanah menghasilkan pertumbuhan mikroba yang lebih besar dibanding tanpa pembalikan tanah Untuk penambahan nutrien 0,4 kg/petak menghasilkan pertumbuhan mikroba paling besar, menyusul 0,2 kg/petak, dan penambahan nutrient sebanyak 0,6 kg/petak pertumbuhan mikroba sangat kecil.

**Analisi Terhadap Konsentrasi**

Interaction Plot - Data Means for logmikroba



Gambar 4. Hubungan konsentrasi dan pertumbuhan

Dari gambar 4, diatas pada semua level konsentrasi jenis organik menghasilkan pertumbuhan mikroba yang lebih besar dibanding jenis anorganik untuk jenis organik, pertumbuhan mikroba tertinggi pada konsentrasi 0,4 kg dan sebaliknya pada jenis anorganik menghasilkan pertumbuhan mikroba paling kecil. Selanjutnya akan diuji pada masing-masing level konsentrasi apakah pertumbuhan mikroba untuk jenis organik dan anorganik signifikan.

**One-way ANOVA: logmikroba versus konsen**

Analysis of Variance for logmikro					
Source	DF	SS	MS	F	P
Jenis	1	60,20	60,20	27,17	0,000
Error	46	101,93	2,22		
Total	47	162,14			

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev					
Level	N	Mean	StDev	-----+-----	
1	24	6,140	0,779	-----+-----	
2	24	3,900	1,956	(- - - - * - - - -)	
-----+-----					
Pooled StDev =		1,489	4,0	5,0	6,0

Pada konsentrasi 0,4 kg , pertumbuhan mikroba pada jenis organik dan anorganik (nilai  $P=0.000 < 0.05$ ). Pertumbuhan mikroba untuk jenis organik jauh lebih besar (rata-rata=6.140) dibanding pertumbuhan mikroba jenis anorganik (rata-rata = 3.900).

### One-way ANOVA: logmikroba terhadap konsen nutrien

Analysis of Variance for logmikro					
Source	DF	SS	MS	F	P
Jenis	1	5,69	5,69	1,77	0,190
Error	46	147,67	3,21		
Total	47	153,36			

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev					
Level	N	Mean	StDev	-----*-----	
1	24	5,578	1,954	(-----*-----)	
2	24	4,890	1,613	(-----*-----)	
-----*-----					
Pooled StDev =	1,792	4,20	4,80	5,40	6,00

Pada konsentrasi 0,3 kg, pertumbuhan mikroba pada jenis organik dan anorganik (nilai  $P=0.190>0.05$ ). Pertumbuhan mikroba untuk jenis organik masih lebih besar (rata-rata=5.578) dibanding pertumbuhan mikroba jenis anorganik (rata-rata = 4.89).

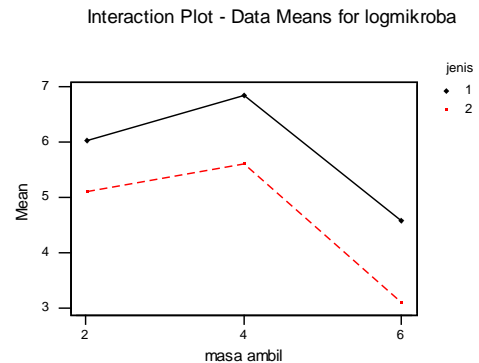
### One-way ANOVA: logmikroba versus jenis nutrien

Analysis of Variance for logmikro					
Source	DF	SS	MS	F	P
Jenis	1	5,15	5,15	3,90	0,054
Error	46	0,80	1,32		
Total	47	65,96			

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev					
Level	N	Mean	StDev	-----*-----	
1	24	5,715	0,875	(-----*-----)	
2	24	5,060	1,370	(-----*-----)	
-----*-----					
Pooled StDev =	1,150	5,00	5,50	6,00	

Begitu juga Pada konsentrasi 0,2 kg, pertumbuhan mikroba pada nutrien organik dan anorganik (nilai  $P=0.0540>0.05$ ). Pertumbuhan mikroba untuk jenis organik masih lebih besar (rata-rata=5.72) dibanding pertumbuhan mikroba jenis anorganik (rata-rata = 5.02).

### Analisis terhadap Jenis nutruen



Gambar 5. Masa ambil dengan jumlah pertumbuhan

Dalam analisis varian faktor masa ambil, dimana masa ambil pada titik ke empat paling tinggi, artinya bahwa pertumbuhan mikroba yang paling banyak pada sampel minggu ke empat dan pada pengambilan sampel minggu ke enam jumlah mikroba justru turun.

### KESIMPULAN

Dari kedua jenis yaitu organik dan anorganik, terlihat nutrient organik menghasilkan pertumbuhan mikroba yang lebih besar dibanding jenis anorganik, pertumbuhan mikroba tertinggi pada penambahan nutrient organik 0,4 kg/kg tanah, dan sebaliknya 0,4 kg/kg tanah, dan sebaliknya pada jenis anorganik menghasilkan pertumbuhan mikroba paling kecil pada bioremediasi tumpahan binyak dengan metode biostimulasi di lingkungan pantai pada penelitian ini .

Dari analisis varian dimana masa ambil pada titik ke empat paling tinggi, artinya bahwa pertumbuhan mikroba yang paling banyak pada sampel minggu ke empat dan pada pengambilan sampel minggu ke enam jumlah mikroba justru turun.

## PUSTAKA

- Atlas, R.M. (1995). **Petroleum Biodegradation and Oil Spill Bioremediation.** *Marine Pollution Bulletin*, Vol. 31, No. 4-12, pp. 178-182.
- Cookson, Jr. John T. (1995). **Bioremediation Engineering design and Application.** McGraw-Hill, app B
- Gogoi, B.K., Dutta, N.N., Goswami, P., Mohan, T.R.K. (2003). **A Case Study of Bioremediation of Petroleum Hydrocarbon Contaminated Soil at A Crude Oil Spill Site.** *Advances in Environmental Research*, Vol. 7, pp. 767-782.
- Hozumi, T., Tsutsumi, H., Kono, M. (2000). **Bioremediation on the Shore after an Oil Spill from the Nakhodka in the Sea of Japan. I. Chemistry and Characteristics of Heavy Oil Loaded on The Nakhodka and Biodegradation Tests by a Bioremediation agent with Microbiological Cultures in the Laboratory.** *Marine Pollution Bulletin*, Vol. 40, No. 4, pp. 308-314.
- Khomsin (2004). **Aplikasi Remote Sensing untuk Mendeteksi Sebaran Tumpahan Minyak.** *Pencemaran Pantai dan Laut-PPS-FTK-TMP-ITS Surabaya.*
- Munawar dan Mukhtasor (2005). **Perkembangan Teknologi Bioremediasi untuk Penanggulangan Tumpahan Minyak di Wilayah Perisir,** Makalah Pertemuan Ilmiah Tahunan II ISOI
- Nichols, W.J. (2003). **An Overview of the USEPA National Oil and Hazardous Substances Pollution Contingency Plan, Subpart J Product Schedule (40 CFR 300.900).** *Spill Science & Technology Bulletin* Vol. 8, No. 5-6, pp. 521-527.
- Pelletier, E., Delille, D., Delille, B. (2004). **Crude Oil Bioremediation in sub-Antarctic Intertidal Sediments: Chemistry and Toxicity of Oiled Residues.** *Marine Environmental Research* 57, pp. 311-327.
- Pezeshki, S.R., Hester, M.W., Lin, Q., Nyman, J.A. (2000). **The Effects of Oil Spill and Clean-up on Dominant US Gulf Coast Marsh Macrophytes: a Review.** *Environmental Pollution* 108, pp. 129-139.
- Prince, R.C., Bare, R.C., Garret, R.M., Grossman, M.J., Haith, C.E., Keim, L.G., Lee, K., Holtom, G.J., Lambert, P., Sergy, G.A., Owens, E.H., Guenette, C.C. (2003). **Bioremediation of Stranded Oil on an Arctic Shoreline.** *Spill Science & Technology Bulletin*, Vol. 8, No. 3, pp. 303-312.
- Ramsay, M.A., Swannel, R.P.J., Shipton, W.A., Duke, N.C., Hill, R.T. (2000). **Effect of Bioremediation on the Microbial Community in Oiled Mangrove Sediments.** *Marine Pollution Bulletin*, Vol. 41, No. 7-12, pp. 413-419.
- Reed, M. (1989). **Physical Fates Component of Natural Resources Destruction Assessment Model System.** *Oil & Chemical Pollution*, Elsevier Science Publisher Ltd, England.
- Triatmodjo, B. (1999). **Teknik Pantai.** Beta Offset, Yogyakarta.
- Wrabel, M.L., Peckol, P. (2000). **Effects of Bioremediation on Toxicity and Chemical Composition of No. 2 Fuel Oil: Growth Responses of the Brown Alga *Fucus vesiculosus*.** *Marine Pollution Bulletin*, Vol. 40, No. 2, pp. 135-1