



---

TESIS - RE92314

**PERAN BIOSURFAKTAN DARI PROSES  
*COMPOSTING* UNTUK DESORPSI HIDROKARBON  
PADA TANAH TERKONTAMINASI MINYAK BUMI**

**SUHENDRA AMKA PUTRA  
3315 201 203**

**DOSEN PEMBIMBING  
Prof. Dr. Yulinah Trihadiningrum, M.AppSc**

**PROGRAM MAGISTER  
DEPARTEMEN TEKNIK LINGKUNGAN  
FAKULTAS TEKNIK SIPIL, LINGKUNGAN DAN KEBUMIHAN  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA  
2018**



---

THESIS - RE92314

***THE ROLE OF BIOSURFACTANT DURING THE  
COMPOSTING PROCESS IN HYDROCARBON  
DESORPTION OF CONTAMINATED-SOIL BY  
CRUDE OIL***

SUHENDRA AMKA PUTRA  
3315 201 203

SUPERVISOR  
Prof. Dr. Yulinah Trihadiningrum, M.AppSc

MASTER DEGREE PROGRAM  
DEPARTMENT OF ENVIRONMENTAL ENGINEERING  
FACULTY OF CIVIL, ENVIRONMENTAL AND GEO ENGINEERING  
INSTITUTE OF TECHNOLOGY SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA  
2018



TESIS - RE92314

**PERAN BIOSURFAKTAN DARI PROSES  
*COMPOSTING* UNTUK DESORPSI HIDROKARBON  
PADA TANAH TERKONTAMINASI MINYAK BUMI**

**SUHENDRA AMKA PUTRA**  
3315 201 203

**DOSEN PEMBIMBING**  
Prof. Dr. Yulinah Trihadiningrum, M.App.Sc

**PROGRAM MAGISTER  
DEPARTEMEN TEKNIK LINGKUNGAN  
FAKULTAS TEKNIK SIPIL, LINGKUNGAN DAN KEBUMIHAN  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA  
2018**

## LEMBAR PENGESAHAN TESIS

Tesis disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar  
**Magister Teknik (M.T.)**  
di  
**Institut Teknologi Sepuluh Nopember**


Oleh :  
**Suhendra Amka Putra**  
NRP. 3315 201 203

Tanggal Ujian : 04 Januari 2018  
Periode Wisuda : Maret 2018

Disetujui oleh :

  
1. **Prof. Dr. Yulinah Trihadiningrum, M.App.Sc** (Pembimbing)  
NIP : 19530706 198403 2 004

  
2. **I.D.A.A Warmadewanthi, S.T., M.T., Ph.D** (Penguji)  
NIP : 19750212 199903 2 001

  
3. **Arseto Yekti Bagastyo, S.T., M.T., M.Phil., Ph.D** (Penguji)  
NIP : 19820804 200501 1 001

  
4. **Harmin Sulistyoning Titah, S.T., M.T., Ph.D** (Penguji)  
NIP : 19750523 200212 2 001



Fakultas Teknik Sipil, Lingkungan dan Kebumihan  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

**I.D.A.A Warmadewanthi, S.T., M.T., Ph.D**  
NIP.19750212 199903 2 001

# **PERAN BIOSURFAKTAN DARI PROSES COMPOSTING UNTUK DESORPSI HIDROKARBON PADA TANAH TERKONTAMINASI MINYAK BUMI**

Nama Mahasiswa : Suhendra Amka Putra  
NRP : 3315 201 203  
Jurusan : Teknik Lingkungan  
Dosen Pembimbing : Prof. Dr. Yulinah Trihadiningrum, M.App.Sc.

## **ABSTRAK**

Kegiatan eksplorasi dan eksploitasi minyak bumi berpotensi mengakibatkan terjadinya pencemaran tanah. Tumpahan minyak dapat menjadi polusi dan berdampak merusak lingkungan. Hidrokarbon merupakan salah satu komponen utama dalam minyak bumi. Kelarutan hidrokarbon yang rendah dalam tanah menyebabkan rendahnya efisiensi biodegradasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji karakteristik dan kemampuan biosurfaktan yang dihasilkan oleh bakteri campuran dalam proses *composting* tanah terkontaminasi minyak bumi dengan campuran sampah organik berupa sampah kebun dan rumen sapi, serta menentukan kemampuan desorpsi hidrokarbon pada tanah terkontaminasi minyak bumi.

Penelitian ini terdiri atas dua tahap, penelitian tahap I bertujuan untuk mengkarakterisasi biosurfaktan. Penelitian tahap I terdiri atas dua faktor rancangan yaitu komposisi sampah organik (sebagai sumber bakteri) dan media kultur. Sampel diambil setiap 20 hari selama 60 hari proses *composting*. Terdapat total 96 unit sampel yang digunakan untuk karakterisasi biosurfaktan. Sumber bakteri campuran terdiri atas: tanah terkontaminasi dan sampah organik dengan rasio 50:50 (TS), sampah kebun (SK), rumen sapi (RS), dan tanah terkontaminasi minyak bumi (T). Media kultur yang digunakan yaitu: ekstrak sampah organik, minyak bumi serta campuran ekstrak sampah organik dan minyak bumi. Penelitian tahap I diawali dengan isolasi bakteri campuran guna mendapatkan biosurfaktan dengan cara meresuspensi menggunakan NaCl 0,9%. Kemudian dilakukan pemisahan biosurfaktan menggunakan sentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 30 menit. Analisis karakteristik meliputi penurunan tegangan permukaan dan aktifitas emulsifikasi. Penelitian tahap II adalah *soil washing* yang bertujuan untuk menentukan kemampuan biosurfaktan dalam desorpsi hidrokarbon kemudian membandingkan kemampuannya dengan surfaktan sintetik Tween 80 dengan variasi dosis Tween 80 yaitu 0%, 0,5%, 1%, 1,5%, 2%, 2,5%, dan 3% menggunakan metode agitasi. Kadar hidrokarbon diukur dengan metode ekstraksi soxhlet dengan pelarut n-hexane. Tegangan permukaan diukur dengan *Tensiometer Du-Nouy* dan aktivitas emulsifikasi diukur menggunakan metode ekstraksi kerosin.

Hasil karakterisasi biosurfaktan menunjukkan kemampuan penurunan tegangan permukaan dari setiap sumber berkisar antara 34,5 dyne/cm – 52,9 dyne/cm, dengan nilai penurunan tegangan permukaan tertinggi terdapat pada sampel (TS<sub>02</sub>)<sub>40</sub> yaitu sebesar 52,9 dyne/cm. Kemampuan emulsifikasi menunjukkan aktivitas emulsi biosurfaktan setelah 24 jam berkisar antara 12,3 – 27,0% dengan nilai aktivitas emulsifikasi tertinggi terdapat pada sampel (RS<sub>02</sub>)<sub>40</sub> sebesar 27,0%. Hasil *soil washing* menghasilkan desorpsi hidrokarbon sebesar 18,76 – 48,95%. Desorpsi hidrokarbon tertinggi terdapat pada isolasi bakteri dari rumen sapi yang ditumbuhkan pada media campuran ekstrak sampah dan minyak bumi hari ke-40 (RS<sub>02</sub>)<sub>40</sub> sebesar 48,95%. Isolat bakteri lainnya menghasilkan desorpsi hidrokarbon yang lebih rendah yaitu sampah kebun yang ditumbuhkan pada media ekstrak sampah hari ke-20 (SK<sub>0</sub>)<sub>20</sub>, sampah dan tanah tercemar pada media ekstrak sampah hari ke-20 (TS<sub>0</sub>)<sub>20</sub>; dan tanah tercemar pada media campuran ekstrak sampah dan minyak bumi hari ke-20 (T<sub>02</sub>)<sub>20</sub> masing-masing sebesar 33,36 ; 26,86% ; dan 18,76%. Apabila dibandingkan dengan kemampuan desorpsi hidrokarbon oleh Tween 80, sampel (RS<sub>02</sub>)<sub>40</sub> ekuivalen terhadap Tween 80 dengan konsentrasi 1,0%. Sedangkan sampel (SK<sub>0</sub>)<sub>20</sub> dan (TS<sub>0</sub>)<sub>20</sub> ekuivalen terhadap Tween 80 dengan konsentrasi 0,5%.

**Kata kunci:** aktivitas emulsifikasi, biosurfaktan, *composting*, hidrokarbon, penurunan tegangan permukaan.

# **THE ROLE OF BIOSURFACTANT DURING THE COMPOSTING PROCESS IN HYDROCARBON DESORPTION OF CONTAMINATED-SOIL BY CRUDE OIL**

*Student Name* : Suhendra Amka Putra  
*ID* : 3315 201 203  
*Department* : Environmental Engineering  
*Supervisor* : Prof. Dr. Yulinah Trihadiningrum, M.App.Sc.

## **ABSTRACT**

*Oil exploration and exploitation activities have the potential to cause soil pollution. Oil spills can be harmful and pollute the environment. Hydrocarbon is one of the main compounds in crude oil. The low hydrocarbon solubility in soil may cause the low biodegradation efficiency. This study aimed to examine the characteristics and abilities of biosurfactants produced by mixed bacteria during composting process of crude oil contaminated soil with a mixture of yard waste and rumen waste, and to determine hydrocarbon desorption capacity by the biosurfactants.*

*This research consisted of two stages. Biosurfactant characteristics were measured in research stage I. This stage was conducted using varied organic waste compositions (as bacterial sources) and culture media. Samples were collected in replicate every 20 days during 60 days of composting duration. Therefore, a total of 96 experiment units were used for biosurfactant characterization. The sources of mixed bacteria comprised: contaminated soil and organic waste of 50:50 ratio (TS), yard waste (SK), rumen waste (RS), and crude oil contaminated soil (T). The culture media were: organic waste extract, crude oil, and mixture of organic waste extract and crude oil. The first stage of the study was initiated by isolation of mixed bacteria using 0.9% NaCl, followed by biosurfactant separation. Separation of biosurfactant was done by centrifugation at 4000 rpm for 30 minutes. Biosurfactant characterization was done according to surface tension declining capacity and emulsification activity. The second stage of the research was soil washing which aimed to determine biosurfactant ability in hydrocarbon desorption and to compare with synthetic surfactant Tween 80 with dose variations of 0%, 0.5%, 1%, 1.5%, 2%, 2.5%, and 3%. The soil washing was conducted using agitation method. The hydrocarbon content was measured by soxhlet extraction method using n-hexane as solvent. Surface tension was measured using Tensiometer Du-Nouy, and emulsification activity was measured using kerosene extraction method.*

*The biosurfactant characterization results showed surface tension decline value range between 34.5 dyne/cm and 52.9 dyne/cm. The highest surface tension decline value was measured in sample (TS<sub>02</sub>)<sub>40</sub> of 52.9 dyne/cm. The emulsification activity values were 12.3 – 27.0% after 24 hours. The highest emulsification activity value (27.0%) was observed in sample (RS<sub>02</sub>)<sub>40</sub>. The soil washing showed hydrocarbon desorption capacity of 18.76 – 48.95%. Highest hydrocarbon*

*desorption capacity (48.95%) was observed in bacterial isolate from rumen waste, which was grown in mixed crude oil and extract of organic waste media in 40<sup>th</sup> day incubation period (RS<sub>02</sub>)<sub>40</sub>. Bacterial isolates from other sources showed lower hydrocarbon desorption capacities. Isolates from yard waste which was grown for 20 days in organic waste extract media (SK<sub>0</sub>)<sub>20</sub>, contaminated soil and organic waste of 50:50 ratio in organic waste extract media (TS<sub>0</sub>)<sub>20</sub> and contaminated soil in mixed media of organic waste extract and crude oil (T<sub>02</sub>)<sub>20</sub>, were 33.36%, 26.86%, and 18.76%, respectively. When compared to the hydrocarbon desorption capacities of Tween 80, sample (RS<sub>02</sub>)<sub>40</sub> showed equivalent value to 1.0% Tween 80. Whereas, samples (SK<sub>0</sub>)<sub>20</sub> and (TS<sub>0</sub>)<sub>20</sub> had equivalent to hydrocarbon desorption capacity 0.5% Tween 80.*

***Keywords: biosurfactant, composting, emulsification activity, hydrocarbon, surface tension decline.***



## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur Hamdallah bagi Allah SWT karena atas limpahan rahmat dan ridho-Nya dan juga utusan-Nya, yaitu Rasulullah SAW sehingga penyusun dapat menyelesaikan tesis dengan judul “Peran Biosurfaktan dari Proses *Composting* untuk Desorpsi Hidrokarbon pada Tanah Terkontaminasi Minyak Bumi”.

Dalam laporan tesis ini penulis mengucapkan terima kasih, atas segala bentuk dukungan yang telah diberikan hingga terselesaikannya laporan tesis ini kepada,

1. Ibu Prof. Dr. Yulinah Trihadiningrum, M. App.Sc. selaku dosen pembimbing tesis, terima kasih atas kesediaan, kesabaran, bimbingan dan ilmu yang bermanfaat dalam penyusunan tesis ini.
2. Ibu IDAA Warmadewanthi, ST., M.T., Ph.D., Bapak Arseto Yekti Bagastyo, ST., M.T., M.Phil., Ph.D, dan Ibu Harmin Sulistyaningtitah, ST., MT., PhD selaku dosen pengarah dan penguji tesis, terima kasih atas saran, arahan serta bimbingannya.
3. Bapak Dr. Ir. Mohammad Razif, MM selaku Dosen Wali yang telah membimbing dan mengarahkan penulis selama masa perkuliahan.
4. Bapak Adhi Yuniarto ST, MT, Ph.D selaku Ketua Departemen Teknik Lingkungan, FTSP, ITS yang telah banyak membantu kelancaran dalam pembuatan Laporan Tesis.
5. Ibu Ipung Fitri Purwanti, ST, MT, Ph.D selaku koordinator tugas akhir, terima kasih atas informasi, arahan dan saran dalam penyusunan tugas akhir ini.
6. Ibu Mery, Ibu Iin, dan Bapak Hadi selaku tendik di Laboratorium Jurusan Teknik Lingkungan lainnya serta Mbak Nastiti Tri Karuniawati, S.Si dan tim analisis Laboratorium Terpadu Universitas Airlangga yang telah membantu dan memfasilitasi penelitian di laboratorium.
7. Kak Gina Lova Sari ST., M.T., terima kasih atas izin bagi penulis untuk berpartisipasi dalam penelitiannya, dan kesabaran, bimbingan dan arahan selama penelitian.

8. Rizkiy Amaliyah Barakwan, ST., dan Dwiyanti Agustina, ST. atas kerja sama, dukungan dan *sharing* ilmu sebagai satu tim penelitian.
9. Bapak Dr. Andy Mizwar, S.Si., MT atas ketersedaannya dalam membantu ide topik penelitian tesis ini dan *sharing* ilmu pengetahuan.
10. Keluarga di rumah baik ayah, ibu, dan adik yang selalu memberikan doa, semangat, dan dukungan yang luar biasa.
11. Teman-teman program S-2 reguler Teknik Lingkungan ITS angkatan 2015 dan 2016 terutama Rima Nurmalasari, Dita Auliya Putri, Rizky Yulistianto, Ratna Rizky Rusdiani, I Made Satya Graha, dan Nashrullah Al Mubarak atas dukungan, bantuan, dan *sharing* ilmu pengetahuan.
12. Teman-teman Asrama Mahasiswa Kalimantan Selatan (AMKS) Surabaya Hasanuddin HM, Kak Adit, Daus, Bang Berty, Khalil, Amat, Bana, Ariadi, Pak Arsyad, Pak Nashrul, Hendy, Sesarea, Bayu, dan Adithea, atas kebersamaannya yang memberikan semangat kepada Penulis untuk dapat menyelesaikan laporan tesis ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan Tesis ini masih terdapat kekurangan dan jauh dari kesempurnaan. Namun, Penulis tetap berharap semoga Tesis ini dapat menjadi pengetahuan baru yang bermanfaat baik bagi Penulis maupun Pembaca. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang mampu membangun menjadi lebih baik lagi.

## DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	
ABSTRAK .....	i
<i>ABSTRACT</i> .....	iii
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR TABEL .....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	xi
BAB 1 PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan .....	4
1.4 Ruang Lingkup .....	4
1.5 Manfaat .....	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....	7
2.1 Senyawa Hidrokarbon .....	7
2.1.1 Jenis dan Karakteristik Hidrokarbon .....	8
2.1.2 Minyak Bumi sebagai Sumber Alami Hidrokarbon .....	10
2.1.3 Potensi Pencemaran Hidrokarbon dalam Tanah .....	11
2.2 Remediasi Tanah dengan Metode <i>Composting</i> .....	12
2.2.1 Macam-macam Metode <i>Composting</i> .....	13
2.2.2 Penguraian Hidrokarbon dengan Metode <i>Composting</i> .....	15
2.3 Biosurfaktan .....	17
2.3.1 Karakteristik Biosurfaktan .....	19
2.3.2 Pembentukan Biosurfaktan .....	20
2.3.3 Parameter Pengukuran Biosurfaktan .....	23
2.3.3.1 Tegangan Permukaan .....	24
2.3.3.2 Aktivitas Emulsifikasi .....	25
2.3.4 Potensi Biosurfaktan dalam Desorpsi Hidrokarbon .....	25
2.4 Tween 80 .....	28
2.5 <i>Soil Washing</i> .....	29
2.6 Penelitian Pendahuluan .....	30
BAB 3 METODE PENELITIAN .....	35
3.1 Gambaran Umum .....	35
3.2 Kerangka Penelitian .....	35
3.3 Penelitian Tahap I .....	35
3.3.1 Preparasi Bakteri Campuran .....	38
3.3.2 Preparasi Media Bakteri .....	39
3.3.3 Pengambilan dan Preparasi Sampel Tanah Terkontaminasi Minyak Bumi .....	40
3.3.4 Isolasi dan Kultur Bakteri Campuran .....	41
3.3.5 Ekstraksi Biosurfaktan .....	41
3.4 Penelitian Tahap II .....	42
3.5 Pengukuran Parameter Penelitian .....	44
3.6 Analisis Data Penelitian .....	47
3.7 Pembahasan, Kesimpulan, dan Saran .....	48

BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN .....	49
4.1 Karakterisasi Biosurfaktan .....	49
4.1.1 Preparasi dan Ekstraksi Biosurfaktan .....	49
4.1.2 Jumlah Populasi Bakteri .....	52
4.1.3 Karakterisasi Biosurfaktan pada Sumber Rasio Optimum Tanah Tercemar dan Sampah Organik 50:50 (TS) .....	53
4.1.4 Karakterisasi Biosurfaktan pada Sumber Sampah Kebun (SK) .....	58
4.1.5 Karakterisasi Biosurfaktan pada Sumber Rumen Sapi (RS) .....	60
4.1.6 Karakterisasi Biosurfaktan pada Sumber Tanah Tercemar (T) .....	63
4.2 Kemampuan Desorpsi Hidrokarbon .....	65
4.2.1 <i>Soil Washing</i> oleh Biosurfaktan .....	66
4.2.2 <i>Soil Washing</i> oleh Tween 80 .....	70
4.2.3 Komparasi Desorpsi Hidrokarbon .....	71
4.3 Uji Statistik ANOVA .....	72
4.4 Korelasi Antara Penurunan Tegangan Permukaan, Aktivitas Emulsifikasi, Dan Desorpsi Hidrokarbon .....	77
BAB 5 KESIMPULAN .....	85
5.1 Kesimpulan .....	83
5.2 Saran .....	83
DAFTAR PUSTAKA .....	87
LAMPIRAN A .....	99
LAMPIRAN B .....	109
BIODATA PENULIS .....	127

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Biosurfaktan yang dihasilkan mikroba .....	22
Tabel 3.1 Faktor rancangan penelitian tahap I .....	35
Tabel 3.2 Faktor rancangan penelitian tahap II .....	42
Tabel 3.3 Ringkasan metode pengukuran parameter dan analisis sampel .....	43
Tabel 4.1 Komparasi desorpsi hidrokarbon optimum dari masing-masing Sumber biosurfaktan .....	67

***HALAMAN INI SENGAJA DIKOSONGKAN***

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur siklik lipopetid surfaktan .....	20
Gambar 2.2	Laju penyisihan hidrokarbon .....	32
Gambar 3.1	Kerangka metode penelitian .....	34
Gambar 3.2	Lokasi pengambilan sampel tanah tercemar minyak bumi di Kab. Bojonegoro .....	41
Gambar 4.1	Nilai pH sampel sebelum inkubasi .....	48
Gambar 4.2	Kulturisasi Isolat .....	48
Gambar 4.3	Nilai pH sampel setelah inkubasi .....	49
Gambar 4.4	Pemisahan biosurfaktan dengan biomasa .....	50
Gambar 4.5	Jumlah populasi bakteri .....	51
Gambar 4.6	Kurva penurunan tegangan permukaan sampel TL .....	54
Gambar 4.7	Kurva aktifitas emulsifikasi sampel TL .....	56
Gambar 4.8	Kurva penurunan tegangan permukaan sampel SK .....	58
Gambar 4.9	Kurva aktifitas emulsifikasi sampel SK .....	59
Gambar 4.10	Kurva penurunan tegangan permukaan sampel RS .....	60
Gambar 4.11	Kurva aktifitas emulsifikasi sampel RS .....	61
Gambar 4.12	Kurva penurunan tegangan permukaan sampel T .....	63
Gambar 4.13	Kurva aktifitas emulsifikasi sampel T .....	63
Gambar 4.14	Desorpsi hidrokarbon oleh biosurfaktan .....	64
Gambar 4.15	Desorpsi hidrokarbon oleh Tween 80 .....	69
Gambar 4.16	Grafik plot kemampuan desorpsi hidrokarbon biosurfaktan dengan Tween 80 .....	70

***HALAMAN INI SENGAJA DIKOSONGKAN***



# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1. Latar Belakang**

Kontaminasi minyak bumi merupakan salah satu isu lingkungan global yang menyebabkan terjadinya pencemaran tanah. Tumpahan minyak dan bahan bakar menjadi polusi yang luas dan paling berdampak merusak lingkungan sehingga berpotensi mengancam kesehatan manusia dan ekosistem (Snape *et al.*, 2007). Berbagai kasus pencemaran dari kegiatan penambangan minyak bumi dan gas yang terjadi di Indonesia memerlukan perhatian yang lebih serius. Kasus pencemaran seperti yang terjadi di Tarakan (Kalimantan Timur), Riau, Sorong (Papua), Indramayu serta terakhir kasus pencemaran di Bojonegoro (Jawa Timur). Hardjowigeno (2003) dan Hadrianto *et al.* (2012) melaporkan pada tanah yang tercemar minyak bumi di daerah pertambangan Bojonegoro mengandung unsur makro yaitu karbon (C) 8,53% (sedang), nitrogen (N) 0,20% (rendah), posfor (P) 0,01% (sangat rendah), Kalium (K) 0,22 % (sedang) dan kadar TPH yaitu 41.200 mg/kg. Dari hasil analisis ini, tanah tidak baik untuk pertanian karena hara N tergolong rendah dan senyawa hidrokarbon tergolong tinggi. Kadar TPH tersebut melebihi baku mutu yang berlaku berdasarkan Lampiran 2 Keputusan Menteri Lingkungan Hidup No. 128 Tahun 2013 yaitu 1%.

Hidrokarbon minyak bumi merupakan salah satu kontaminan paling umum yang membutuhkan remediasi karena sangat berkaitan dengan kesehatan manusia dan indikasi adanya pencemaran air. Kontaminan hidrokarbon pada tanah yang sulit diuraikan dan bersifat toksik akan mengganggu pertumbuhan tanaman dan organisme lain yang tumbuh di dalamnya (Kirk *et al.*, 2004). Hidrokarbon dapat berdampak buruk baik bagi manusia maupun lingkungan. Ketika senyawa tersebut mencemari permukaan tanah, maka zat tersebut dapat menguap, tersapu air hujan, atau masuk ke dalam tanah kemudian terendap sebagai zat beracun. Hidrokarbon dapat meresap ke dalam lapisan tanah dan tertahan dalam jangka waktu yang cukup lama. Keberadaan hidrokarbon dalam tanah dapat menyebabkan terganggunya

kesetimbangan ekosistem karena sifatnya yang sangat toksik dan sulit didegradasi. Hal ini disebabkan hidrokarbon bersifat hidrofobik, yaitu memiliki tingkat kelarutan yang sangat rendah terhadap air (Jain *et al.*, 2011). Dengan sifatnya ini hidrokarbon minyak bumi berpotensi mengikat bahan-bahan organik dan membentuk mikropolutan dalam tanah. Sehingga ketersediaan bahan organik dalam tanah berkurang drastis yang mengakibatkan terganggunya metabolisme mikroorganisme (Bamforth dan Singleton, 2005).

Proses bioremediasi dapat dilakukan secara pengomposan (*bioremediasi-composting*). Penambahan kompos berfungsi sebagai sumber inokulan dan sebagai sumber nutrisi dalam tanah, yang akan mempercepat terjadinya degradasi bahan pencemar hidrokarbon (Ryckeboer *et al.*, 2003). *Bioremediasi-composting* dengan mencampurkan tanah yang terkontaminasi hidrokarbon dengan bahan-bahan pembuatan kompos merupakan teknik bioremediasi yang dapat diaplikasikan. Metode ini akan menyebabkan terjadinya degradasi bahan organik pada kedua bahan tersebut (Zhang *et al.*, 2011; Amir *et al.*, 2005; Antizar-Ladislao *et al.*, 2005). Bamforth dan Singleton (2005) menyatakan bahwa *composting* mampu bekerja lebih cepat dan tepat, mudah dikontrol, serta tidak membutuhkan lahan yang banyak.

Bioavailabilitas polutan minyak dalam tanah yang rendah menyebabkan minimnya sumber nutrisi untuk mikroorganisme sehingga menyebabkan rendahnya efektifitas biodegradasi (Paria, 2008). Salah satu cara yang efektif untuk meningkatkan bioavailabilitas polutan hidrofobik dalam tanah adalah dengan memanfaatkan biosurfaktan untuk meningkatkan desorpsi dan solubilitas dari hidrokarbon minyak bumi (Lai *et al.*, 2009; Mulligan *et al.*, 2001). Pada proses *composting* terdapat aktifitas intens dari mikroorganisme yang dapat menyebabkan terjadinya dekomposisi sebagian besar material *biodegradable* dan dapat mengkonversi bahan organik *degradable* menjadi lebih stabil sehingga lebih mudah didesorpsi, meningkatkan kelembaban, dan melepaskan panas (volatilisasi). Bakteri yang terdapat selama proses *composting* berpotensi menghasilkan produk supernatan yang lazim dikenal sebagai biosurfaktan yang dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan akselerasi dekomposisi residu organik sehingga dapat membantu meningkatkan efisiensi biodegradasi (Jahanshah *et al.*, 2012). Biosurfaktan

merupakan molekul amfifatik yang terdiri dari gugus hidrofilik dan hidrofobik sehingga mampu mereduksi tegangan permukaan dan dapat membantu desorpsi hidrokarbon pada matriks tanah (Almansoory *et al.*, 2015; Zhou *et al.*, 2013). Mekanisme desorpsi yang terjadi dapat meningkatkan solubilitas hidrokarbon menjadi lebih *bioavailable* bagi mikroba (Thapa *et al.*, 2012; Almansoory *et al.*, 2015).

Penggunaan biosurfaktan dianggap lebih aman dalam proses *soil washing* tanah terkontaminasi senyawa hidrofobik seperti hidrokarbon minyak bumi (Zhou *et al.*, 2013). Produksi biosurfaktan selama proses *composting* sangat dipengaruhi oleh nilai tegangan permukaan. Biosurfaktan memiliki kemampuan menurunkan nilai tegangan permukaan (Zhang *et al.*, 2002). Jahanshah *et al.* (2012) mengemukakan bahwa terdapat beberapa jenis bakteri yang berperan sebagai penghasil biosurfaktan dalam proses *composting*. Dari 82 *strains* bakteri yang diisolasi dari berbagai fase selama proses *composting*, terdapat 16 *strains* bakteri yang berpotensi menghasilkan biosurfaktan dengan kemampuan degradasi yang hampir sama. Zhang *et al.* (2002) melaporkan bahwa pada penelitiannya, konsentrasi biosurfaktan tertinggi pada proses *composting* sampah makanan terdapat pada hari ke-5 dengan nilai tegangan permukaan 0,48 dyne/cm dari nilai awal sebesar 44,72 dyne/cm.

Kajian mengenai produksi biosurfaktan pada proses *composting* serta karakteristik dan kemampuannya dalam membantu proses desorpsi hidrokarbon selama proses *composting* tanah terkontaminasi minyak bumi masih belum dilakukan. Kondisi ini menjadi celah untuk dilakukannya penelitian tentang peran biosurfaktan yang terbentuk dalam proses *composting* untuk meningkatkan efektifitas desorpsi hidrokarbon pada tanah terkontaminasi minyak bumi.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang penelitian yang dipaparkan, maka dapat disusun rumusan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana karakteristik biosurfaktan meliputi tegangan permukaan dan emulsifikasi yang dihasilkan oleh konsorsium bakteri dari proses *composting*

tanah terkontaminasi hidrokarbon dengan sampah organik berupa campuran sampah kebun dan rumen sapi?

2. Bagaimana kemampuan biosurfaktan yang dihasilkan oleh konsorsium bakteri dari proses *composting* dalam membantu desorpsi hidrokarbon dari tanah terkontaminasi minyak bumi?

### **1.3 Tujuan**

Tujuan yang hendak dicapai dari penelitian ini meliputi:

1. Mengkaji karakteristik biosurfaktan meliputi tegangan permukaan dan emulsifikasi yang dihasilkan oleh konsorsium bakteri dari proses *composting* tanah terkontaminasi hidrokarbon dengan sampah organik berupa campuran sampah kebun dan rumen sapi.
2. Mengkaji kemampuan biosurfaktan yang dihasilkan oleh konsorsium bakteri dari proses *composting* guna membantu desorpsi hidrokarbon dari tanah terkontaminasi minyak bumi.

### **1.4 Ruang Lingkup**

Ruang lingkup penelitian ini adalah:

1. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan skala laboratorium.
2. Sampel tanah terkontaminasi minyak bumi yang digunakan berasal dari pertambangan rakyat di Desa Wonocolo, Kabupaten Bojonegoro, Jawa Timur. Pengambilan sampel tanah terkontaminasi dilakukan pada tanah lapisan atas (*top soil*) di tiga titik yaitu sumur minyak tua, jalur pengangkutan, dan penyulingan minyak bumi menjadi solar.
3. Sampah padat organik yang digunakan sebagai bahan baku pembuatan kompos adalah sampah kebun dari rumah kompos ITS dan rumen sapi yang berasal dari rumah potong hewan Pegirian, Surabaya.
4. Pengujian produsen biosurfaktan terbatas hanya pada konsorsium bakteri selama proses *composting* tanah terkontaminasi minyak bumi berlangsung.

## **1.5 Manfaat**

Manfaat yang dapat diambil setelah penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi tentang alternatif penggunaan *composting* untuk bioremediasi tanah terkontaminasi minyak bumi sebagai metode yang efektif, efisien, dan ramah lingkungan.
2. Memberikan informasi mengenai potensi biosurfaktan yang terbentuk dari proses *composting* sebagai katalisator biodegradasi hidrokarbon untuk bioremediasi tanah terkontaminasi minyak bumi.

***HALAMAN INI SENGAJA DIKOSONGKAN***

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Senyawa Hidrokarbon

Hidrokarbon adalah senyawa kompleks yang terdiri atas dua unsur utama yaitu unsur karbon dan unsur hidrogen. Hidrokarbon dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu hidrokarbon alifatik dan hidrokarbon siklik. Hidrokarbon siklik dibagi menjadi dua kelompok, yaitu hidrokarbon alisiklik dan aromatik. (Nugroho, 2006). Menurut Head *et al.* (2006) hidrokarbon merupakan senyawa yang terdiri atas hidrogen dan karbon dengan rantai karbon yang cukup panjang. Hidrokarbon ini terbagi menjadi dua, yaitu hidrokarbon rantai jenuh dan hidrokarbon rantai tak jenuh. Hidrokarbon rantai jenuh tidak mempunyai rantai ganda. Hidrokarbon jenis ini dikelompokkan berdasarkan struktur kimianya menjadi n-alkana (parafin), isoalkana dan sikloalkana (naften). Hidrokarbon tak jenuh merupakan jenis senyawa hidrokarbon yang mempunyai rantai ganda.

Hidrokarbon merupakan polutan utama yang berasal dari kilang minyak dan tumpahan minyak. Hidrokarbon mengandung senyawa benzena, *stryene*, toluena dan xilena sebagai komponen utama. Hidrokarbon umumnya ditemukan di alam dalam bentuk minyak mentah alami antara lain solar dan *petroleum* (Marsaoli, 2004). Minyak mentah mengandung *petroleum hydrocarbons* (PHC) yang terdiri dari tiga kelompok utama senyawa yaitu alkana (parafin), alkena (olefin) dan aromatik (Adeniyi dan Owoade, 2010). Dalam satu jenis campuran minyak bumi akan terdapat rantai hidrokarbon dengan rantai  $C_3 - C_{35}$  (Jain *et al.*, 2011). Hidrokarbon minyak bumi pada *oil sludge* memiliki rantai karbon kompleks dengan jumlah molekul bervariasi antara  $C_8$  sampai  $C_{33}$  sehingga sulit didegradasi (Nugroho, 2006). Barathi dan Vasudevan (2001) menjelaskan hidrokarbon minyak bumi dapat dibagi menjadi empat bagian yaitu senyawa jenuh, senyawa aromatis, senyawa aspal (fenol, asam lemak, keton, ester dan porfirin) dan resin (piridin, quinolines, carbazoles, sulfoksida dan amida).

Hidrokarbon merupakan senyawa alifatik (jenuh), aromatik (tak jenuh), atau kombinasi dari keduanya. Hidrokarbon alifatik, juga disebut alkana atau parafin, terdiri dari rantai atom karbon yang dihubungkan oleh ikatan kovalen tunggal. Hidrokarbon alifatik dalam minyak bumi dapat bersifat normal (rantai linear), bercabang, atau siklik. Beberapa minyak olahan, khususnya bahan bakar ringan, seperti bensin dan minyak tanah, mengandung olefin (hidrokarbon alifatik yang mengandung satu atau lebih rantai karbon ganda) yang dihasilkan selama proses penyulingan. Olefin biasanya mewakili kurang dari beberapa persen dari hidrokarbon dalam bahan bakar (Neff *et al.*, 2000). Hidrokarbon alifatik merupakan senyawa hidrokarbon yang terdiri atas rantai karbon yang terbuka (Cerniglia, 1992). Bouchez-Naitali *et al.* (1999) dan Noordman *et al.* (2002) menjelaskan beberapa contoh senyawa hidrokarbon alifatik adalah n-butana, isopentana, dan heksadkana.

Selain merupakan senyawa alifatik, hidrokarbon juga bersifat aromatik. Hidrokarbon aromatik dibagi menjadi monoaromatik dan poliaromatik. Hidrokarbon monoaromatik adalah senyawa aromatik yang memiliki satu cincin benzena, seperti toluena, ethylbenzena, dan xylene (Neff *et al.*, 2000). Hidrokarbon monoaromatik bersifat lebih stabil, memiliki bau khas, tidak berwarna dan mudah terbakar. Sedangkan hidrokarbon poliaromatik merupakan komponen organik non polar, umumnya berbentuk kristal, tidak berwarna, bersifat volatil dan kelarutan dalam air semakin menurun seiring dengan peningkatan berat molekulnya. Hidrokarbon poliaromatik rantai panjang dan bercincin memiliki sifat persisten di alam karena karakter hidrofobik substrat dan kelarutan yang rendah pada fase cair (Wilson dan Jones, 1993). Komponen hidrokarbon aromatik berdampak toksik dan karsinogenik bagi manusia. Salah satunya adalah toluena yang dapat menyebabkan gangguan pada sistem saraf pusat, hati, ginjal, dan kulit (Patnaik, 1999).

### **2.1.1 Jenis dan Karakteristik Hidrokarbon**

Kandungan senyawa hidrokarbon dalam *crude oil* dapat diklasifikasikan sebagai hidrokarbon alifatik, sikloalkana, hidrokarbon aromatik, dan hidrokarbon poli-aromatik (Ali, 2012):

- Senyawa Alifatik



Cincin atom karbon dari hidrokarbon alifatik tersusun secara linier, bercabang, atau melingkar tertutup (alisiklik). Alifatik juga terbagi menjadi beberapa golongan, yaitu:

a. Alkana (parafin) yang memiliki ikatan atom C jenuh

Alkana adalah hidrokarbon alifatik jenuh berikatan tunggal dan stabil terhadap reaksi kimia dengan rumus empiris  $C_nH_{2n+2}$ . Alkana merupakan petroleum hidrokarbon yang sangat mudah terdegradasi. Namun alkana pada range  $C_5$  hingga  $C_{10}$  merupakan penghambat dalam proses degradasi hidrokarbon. Pada konsentrasi tinggi, senyawa ini bersifat toksik yaitu mampu merobek membran lipid pada sel mikroorganisme.

b. Alkena (olefin) adalah hidrokarbon alifatik tak jenuh yang memiliki minimal satu ikatan rangkap 2 dengan rumus empiris  $C_nH_{2n}$ .

c. Alkuna adalah hidrokarbon alifatik tak jenuh yang memiliki minimal satu ikatan rangkap 3 dengan rumus empiris  $C_nH_{2n-2}$ .

- Senyawa Sikloalkana

Sikloalkana adalah hidrokarbon alisiklik (cincin siklis) tunggal dan banyak dengan rumus empiris  $C_nH_{2n}$ . Senyawa ini sangat stabil namun lebih reaktif daripada alkana. Sebagaimana pada senyawa alkana, semakin besar jumlah atom C semakin tinggi pula  $S_g$  (*specific gravity*) dan titik didihnya. Degradasi sikloalkana biasanya juga dioksidasi pada gugus terminal metil dan menjadi alkohol.

- Senyawa Aromatik

Hidrokarbon aromatik terbentuk dari 1 molekul benzena dimana 6 buah atom tersusun menyerupai cincin dengan ikatan tunggal dan ganda (Eweis *et al.*, 1998). Volatilitas yang tinggi dan kelarutan yang rendah umumnya dimiliki oleh hidrokarbon aromatik ini. Kandungan hidrokarbon aromatik turut menentukan tingkat toksisitas minyak bumi. Menurut Cookson (1995), cincin benzene hidrokarbon banyak terkandung dalam hidrokarbon aromatik. Contohnya adalah benzena, toluena, etilbenzena, dan xilena yang sering disebut sebagai senyawa BTEX.

Senyawa hidrokarbon aromatik sulit didegradasi dan dapat menghasilkan senyawa *intermediate* yang tidak diinginkan. Metode dasar penyerangan

mikroba pada komponen aromatik bercincin tunggal membentuk senyawa dihidrodiol. Dihidrodiol dioksidasi membentuk alkil katekol yang merupakan senyawa *intermediate*. Hasil oksidasi pemecahan cincin adalah terbentuknya aldehid serta asam yang siap digunakan mikroorganisme untuk sintesa sel dan energi.

- Senyawa Poli Aromatik

Senyawa poli aromatik disebut juga dengan *polycyclic aromatic hydrocarbon* (PAH) yang terdiri dari beberapa senyawa aromatik yang menyatu, misalnya naftalena, asenaftena, dan fluorena. PAH bersifat karsinogenik, semakin banyak jumlah molekul aromatik yang menyatu maka senyawa PAH ini semakin sulit terurai.

### **2.1.2 Minyak Bumi Sebagai Sumber Alami Hidrokarbon**

Minyak bumi atau minyak mentah (*crude oil*) merupakan campuran yang kompleks dari senyawaan kimia, yang terdiri dari unsur-unsur karbon (C), hidrogen (H), sulfur (S), oksigen (O), nitrogen (N) dan logam (Cu, Fe, Ni dan lain-lain). Senyawa yang hanya terdiri dari unsur karbon dan hidrogen dikelompokkan sebagai senyawaan hidrokarbon. Senyawaan hidrokarbon diklasifikasikan atas hidrokarbon parain, olein, naften dan aromatik. Sedangkan senyawaan campuran antara unsur karbon, hidrogen dan salah satu unsur atau lebih dari sulfur, oksigen, nitrogen dan logam dikelompokkan sebagai senyawaan non hidrokarbon (Muhtar, 2001). Risayekti (2004) menjelaskan minyak bumi merupakan bahan tambang yang terdapat di dalam perut bumi, komposisinya berupa senyawaan kimia terdiri dari komponen hidrokarbon dan non hidrokarbon. Minyak bumi berwarna dari coklat kehitam-hitaman sampai hitam pekat dalam bentuk cair dan terdapat gas-gas yang melarut didalamnya, dengan *specific gravity* berkisar antara 0,8 – 1,0.

Kilang minyak bumi pada berbagai industri kimia telah diidentifikasi sebagai *emitter* besar dari berbagai polutan. Benzene, toluene, ethylbenzene, dan xylene (BTEX) membentuk sebuah kelompok senyawa aromatik penting dari senyawa organik volatil (*volatile organic compounds*) karena perannya dalam kimia troposfer dan resiko yang ditimbulkan bagi kesehatan manusia (Baltrenas *et al.*, 2011). Culbertson *et al.* (2008) menjelaskan bahwa pencemaran minyak bumi

meskipun dengan konsentrasi hidrokarbon yang sangat rendah sangat mempengaruhi bau dan rasa air tanah. Sisa- sisa dari tumpahan minyak bumi dapat bertahan selama puluhan tahun dalam sedimen pantai yang dapat mempengaruhi flora dan fauna lokal, selain itu beberapa studi telah meneliti dampak jangka panjang dari sisa tumpahan minyak juga mempengaruhi ekosistem pesisir.

Proses pengolahan minyak dan petrokimia di kilang minyak (*reinery*) menghasilkan lumpur minyak (*oil sludge*), yang berpotensi mencemari lingkungan. *Oil sludge* merupakan kotoran minyak yang terbentuk dari proses pengumpulan dan pengendapan kontaminan minyak yang terdiri atas kontaminan yang memang sudah ada di dalam minyak maupun kontaminan yang terkumpul dan terbentuk dalam penanganan suatu proses. Secara fisik *oil sludge* mempunyai berat jenis antara 0,93 – 1,05, berwarna dari coklat tua sampai hitam, berbau hidrokarbon dan kelarutan dalam air sangat rendah (Carmen *et al.*, 2009). Aguilera *et al.* (2010) menjelaskan dampak dari tumpahan minyak berpengaruh pada kesehatan fisik dan mental pada populasi yang terkena, terutama mengacu pada gejala klinis dan kesehatan yang berhubungan dengan kualitas hidup. Populasi atau individu dengan derajat paparan yang lebih tinggi atau tinggal di daerah yang paling dekat dengan tumpahan minyak menunjukkan rendahnya tingkat kesehatan mental dibandingkan dengan mereka dengan derajat paparan yang rendah atau tinggal di daerah yang jauh dari tumpahan minyak.

### **2.1.3 Potensi Pencemaran Hidrokarbon dalam Tanah**

Pencemaran tanah adalah keadaan dimana bahan kimia alami dan/atau buatan manusia masuk dan mengubah tatanan tanah alami (Halifah, 2012). Berdasarkan PP No. 150 tahun 2000, disebutkan bahwa kerusakan tanah untuk produksi biomassa adalah berubahnya sifat dasar tanah yang melampaui kriteria baku kerusakan tanah. Kegiatan eksplorasi dan eksploitasi minyak bumi yang meliputi pengeboran, produksi, pengilangan, dan transportasi berpotensi menyebabkan terjadinya pencemaran tanah. Hal ini disebabkan oleh adanya tumpahan atau ceceran dari berbagai kegiatan tersebut. Minyak bumi mempunyai komponen hidrokarbon yang merupakan senyawa organik (Handrianto *et al.*, 2012).

Kontaminan hidrokarbon pada tanah yang sulit diuraikan dan bersifat toksik akan mengganggu pertumbuhan tanaman dan organisme lain yang tumbuh di dalamnya.

Van Gestel *et al.* (2003) mengatakan pencemaran tanah oleh hidrokarbon dapat disebabkan oleh tumpahan solar pada tanah saat proses produksi atau transportasi. Moretto *et al.* (2005) mengatakan tanah terkontaminasi PAH terjadi di kawasan industri Porto Marghera, Venezia, Italia. Wang *et al.* (2011) mengatakan bahwa terjadi pencemaran tanah di Delta Yellow River di Cina karena daerah tersebut adalah kawasan produksi petroleum. Selama bertahun-tahun terjadi kontaminasi hidrokarbon akibat petroleum pada tanah di tempat ini karena produksi, tumpahan, kebocoran pipa minyak, dan transportasi. Baldan *et al.* (2015) mengatakan tanah terkontaminasi hidrokarbon akibat tumpahan bahan bakar diesel secara terus-menerus dalam jangka waktu yang lama yaitu 20-25 tahun terjadi di Italia Timur bagian Utara.

Pencemaran tanah oleh hidrokarbon juga terjadi di beberapa daerah di Indonesia. Pencemaran tanah oleh hidrokarbon terjadi di sekitar tambang minyak Minas PT CPI, Riau akibat tumpahan *crude oil* saat proses pengeboran, produksi, dan transportasi (Karwati, 2009). Ali (2012) juga menyebutkan kasus pencemaran tanah akibat hidrokarbon misalnya di PT. UNILEVER Jakarta seluas 2.2 Ha, di PT. CALTEX seluas 8 Ha, kebocoran pipa minyak mentah di PT. CONNOCO PHILLIPS sepanjang 300 meter dan masih banyak kasus pencemaran lainnya. Juliani dan Rahman (2011) mengatakan pencemaran tanah oleh limbah lumpur minyak akibat kegiatan penambangan minyak bumi oleh PT Pertamina Cilacap.

## **2.2 Remediasi Tanah dengan Metode *Composting***

*Composting* merupakan salah satu bentuk biostimulasi karena adanya penambahan nutrisi, air, dan juga oksigen. *Composting* dilakukan dengan mencampurkan tanah yang terkontaminasi dengan bahan-bahan pembuatan kompos untuk memperbaiki struktur dan porositasnya sehingga dapat mempercepat proses degradasi (Zhang *et al.*, 2011; Antizar-Ladislao *et al.*, 2005). *Composting* pada umumnya berlangsung dalam kondisi aerobik, kondisi dimana mikroorganisme mendegradasi bahan organik menjadi lebih sederhana (kurang/tidak toksik). Oleh karena itu, dalam proses *composting* harus dilakukan pembalikan secara berkala

untuk mendapatkan suplai oksigen yang cukup di semua bagian tanah. Menurut Rycobeber *et al.* (2003) bioremediasi tanah terkontaminasi petroleum hydrocarbon dapat dilakukan dengan metode menambahkan mikroba *non-indigenous* yang berpotensi tinggi mendegradasi hidrokarbon (*bioaugmentation*) atau dengan penambahan nutrisi untuk meningkatkan kemampuan mikroba *indigenous* (*biostimulation*).

*Composting* sebagai metode bioremediasi telah dipertimbangkan sebagai metode yang sesuai dalam mengatasi permasalahan tanah terkontaminasi dan juga dapat mengurangi kontaminan serta meningkatkan struktur dan kandungan tanah (Semple *et al.*, 2001). Sayara *et al.* (2010) menyatakan bahwa pemilihan metode *composting* juga memberikan kontribusi berkelanjutan dalam *reuse* sampah organik *biodegradable* yang kaya akan nutrisi dan mikroorganisme. Metode *composting* sangat berpotensi untuk meremediasi terkontaminasi dengan konsentrasi yang besar (Marin *et al.*, 2006).

### **2.2.1 Macam-Macam Metode *Composting***

Secara umum, metode *composting* dibagi menjadi tiga kategori yaitu *windrow system*, *static pile system*, dan *in-vessel system* (Antizar-Ladislao *et al.*, 2004).

1. *Windrow system* merupakan metode pembuatan kompos paling sederhana dan paling murah. Bahan *composting* pada *windrow system* diletakkan memanjang dan diaerasi oleh gerakan udara konvektif dan difusi, kemudian dilakukan pembalikan berkala secara mekanis untuk mengeksposnya terhadap oksigen ambien. Karakteristik utama pada sistem ini adalah suhu *composting* yang fluktuatif. Suhu akan turun pada saat proses pembalikan akibat masuknya udara ambien yang lebih dingin dan terlepasnya panas dari timbunan bahan, kemudian suhu akan naik kembali akibat aktivitas lanjutan dari mikroorganisme (Antizar-Ladislao *et al.*, 2004). Meskipun sangat populer karena kemudahan implementasi dan biaya operasionalnya yang murah, sistem ini telah dikritik oleh banyak mikrobiologis sejak lama, karena lemahnya kontrol terhadap udara dan suhu mengakibatkan terbatasnya keanekaragaman mikroorganisme dan laju dekomposisi yang lambat.

2. *Static pile system* merupakan teknik *composting* dengan mencampurkan bahan *composting* dan *bulking agents* (biasanya berupa serpihan kayu atau jerami) agar lebih porus dan diaerasi dengan menggunakan sistem aerasi paksa (*forced aeration system*) yang dipasang di bawah tumpukan untuk mempertahankan tingkat oksigen minimum di seluruh massa kompos. Pada sistem ini terjadi gradasi oksigen dan suhu seiring dengan semakin jauhnya posisi masa kompos dari aerator, sehingga di setiap bagian ujung dari timbunan bahan *composting* ditutupi dengan lapisan tebal kompos yang sudah matang sebagai selimut termal untuk memastikan bahwa bagian-bagian ujung tersebut mencapai tingkat suhu yang diharapkan. Proses *composting* aktif akan terjadi selama 3 - 4 minggu tergantung pada sifat substrat yang diproses dan kemudian diikuti dengan fase pematangan selama 2 - 3 bulan.
3. *In-vessel system* merupakan teknik *composting* yang berlangsung dalam kontainer yang sebagian atau seluruhnya tertutup di mana kondisi lingkungan dapat dikendalikan sepenuhnya. Pengendalian suhu pada sistem ini dilakukan melalui daur ulang gas buang yang secara berkala dicampur dengan udara segar yang sekaligus berfungsi untuk mengendalikan suplai oksigen ke dalam substrat. Dengan sistem ini gradasi oksigen dan suhu di seluruh massa kompos sangat kecil. Namun walaupun demikian, *in-vessel composting* memiliki keterbatasan untuk diaplikasikan, karena memerlukan lahan yang luas dan biaya instalasi yang mahal. Oleh karena itu, dalam implementasinya sistem ini digunakan sebagai “*pretreatment bioreactor*” (biasanya selama 5 hari) sebelum dilakukan *composting* konvensional (sistem *windrow*), dimana dekomposisi lanjut, stabilisasi dan pematangan berlangsung.

Berdasarkan prosesnya, Tchobanoglous (1993) membedakan *composting* menjadi dua proses, yaitu proses aerobik dan proses anaerobik. Komposting aerobik merupakan metode pengomposan yang umum digunakan pada proses biologis untuk mengkonversi sampah organik menjadi bahan yang stabil seperti humus. Beberapa aplikasi pada teknik pengomposan secara aerobik adalah sampah taman, pemisahan sampah domestik, dan *composting* dengan lumpur air limbah. Reaksi yang terjadi pada pengomposan aerobik menurut Tchobanoglous *et al.* (1993) yaitu:

Materi organik + O<sub>2</sub> + nutrien + mikroorganismen



Kompos + sel baru + CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O + NO<sub>3</sub> + SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> + panas

Komposting anaerobik mempunyai proses yang lebih kompleks daripada komposting aerobik. Pada pengomposan anaerobik menghasilkan manfaat yang lebih banyak yaitu dihasilkannya energi terbarukan berupa pembentukan gas metana (Tchobanoglous *et al.*, 1993). Reaksi yang terjadi pada pengomposan anaerobik menurut Tchobanoglous *et al.* (1993) yaitu:

Materi organik + H<sub>2</sub>O + nutrien

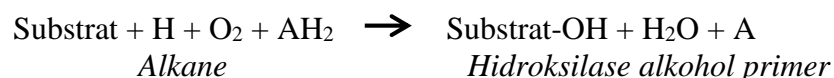


Kompos + sel baru + CO<sub>2</sub> + CH<sub>4</sub> + NH<sub>3</sub> + H<sub>2</sub>S + panas

### 2.2.2 Penguraian Hidrokarbon dengan Metode *Composting*

Penguraian hidrokarbon dengan metode *composting* melalui berbagai rangkaian proses. Bioenergetik atau katabolisme adalah bagian dari proses metabolisme yang dapat menghasilkan energi kimia. Terjadi penguraian molekul-molekul organik menjadi molekul-molekul yang lebih sederhana. Hidrokarbon merupakan senyawa organik nonpolar yang keberadaannya seringkali dianggap sebagai pencemar lingkungan (Trihadiningrum, 2012).

Pada proses penguraian hidrokarbon, pertama-tama hidrokarbon dioksidasi oleh bakteri aerob. Mikroorganismen yang dapat menguraikan jenis senyawa ini tidak terlalu banyak, diantaranya adalah *Pseudomonas fluorescens*, *P. oleovorans*, *Acinobacter calcoaceticus*, *Candida lipolytica*, *Arthrobacter paraffineus*, dan *Corybacterium glutamicum*. Gugus alkil terminal dioksidasi membentuk alkohol primer. Reaksi umumnya adalah sebagai berikut:



Alkohol primer yang terbentuk akan dioksidasi lebih lanjut menjadi aldehida. Senyawa ini kemudian dioksidasi menjadi asam-asam lemak oleh dehidrogenase yang memerlukan NAD. Selanjutnya asam lemak mengalami proses β-oksidasi untuk kemudian memasuki siklus Krebs (Trihadiningrum, 2012). Siklus Krebs

menghasilkan CO<sub>2</sub>, KoA, NADH<sub>2</sub>, FADH<sub>2</sub>, dan ATP. Selanjutnya pada sistem transport elektron, atom-atom H yang keluar dari asam-asam organik pada siklus Krebs dipindahkan oleh enzim dehidrogenase melalui senyawa-senyawa nukleotida (NAD dan NADP), flavoprotein dan sitokrom yang mengandung Fe. Produk akhirnya adalah air dan ATP (Trihadiningrum, 2012).

Pada teknik pemulihan tanah tercemar minyak bumi terdapat dua pendekatan yang dapat digunakan yaitu bioaugmentasi dimana mikroorganisme pengurai ditambahkan untuk melengkapi populasi mikroba yang telah ada, dan biostimulasi di mana pertumbuhan pengurai hidrokarbon asli dirangsang dengan cara menambahkan nutrisi. Metode biostimulasi dengan penambahan nutrisi pada proses pemulihan tanah tercemar minyak bumi diasumsikan mampu menstimulasi pertumbuhan mikroba tanah. Dalam waktu tertentu, pemulihan dengan teknik ini mampu menurunkan konsentrasi minyak bumi. Pertumbuhan mikroba alami pada tanah tercemar tersebut akan mendegradasi hidrokarbon pada tanah tercemar minyak bumi (Handrianto *et al.*, 2012).

Nutrien adalah unsur-unsur atau senyawa yang dapat digunakan untuk membentuk komponen sel yang baru dan dapat digunakan sebagai sumber energi guna kelangsungan aktivitas sel (Trihadiningrum, 2012). Mikroorganisme, sebagaimana makhluk hidup lainnya membutuhkan nutrisi untuk sumber energi dan memenuhi keperluan biosintesis. Energi yang dibutuhkan mikroorganisme untuk melakukan semua aktivitas selnya bersumber dari cahaya matahari atau dari oksidasi senyawa-senyawa kimia. Atom C diperlukan oleh semua jenis organisme karena merupakan pembentuk komponen seluler yang sangat esensial. Semua senyawa organik yang dibutuhkan oleh organisme mengandung atom C, baik yang diperlukan untuk metabolisme (karbohidrat, protein, lemak), maupun yang diperlukan untuk membentuk komponen-komponen sel. Semua makhluk hidup membutuhkan nitrogen untuk membentuk asam amino, nukleotida, dan vitamin. Bakteri-bakteri tertentu menggunakan protein atau polipeptida sebagai sumber N. Oksigen diperlukan untuk membentuk kebanyakan molekul-molekul organik, seperti nukleotida, asam amino, karbohidrat, dan sebagainya. Kebutuhan akan unsur ini dapat diperoleh dari nutrisi organik atau oksigen bebas (Trihadiningrum, 2012).



Sampah organik yang ditambahkan pada tanah terkontaminasi hidrokarbon pada proses *composting* berperan sebagai *co-substrate* yaitu bahan untuk menstimulasi peningkatan aktivitas bakteri dalam tanah tercemar *crude oil* dan memberikan tambahan kadar hara pada tanah (Hardianto *et al.*, 2012). Penambahan nutrisi khususnya kadar hara N, P, K pada tanah tercemar *crude oil* akan menambah konsentrasi kadar hara pada tanah sehingga kadar hara pada tanah mencukupi (Handrianto *et al.*, 2012). Peningkatan konsentrasi kadar hara tanah dapat menstimulasi pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroba, salah satunya bakteri hidrokarbonoklastik (Udiharto, 2005). Pada proses metabolisme bakteri hara N digunakan sebagai penyusun protein, asam nukleat, dan koenzim. Hara P digunakan sebagai penyusun asam nukleat, fosfolipid, dan koenzim. Hara K digunakan sebagai kofaktor beberapa enzim (Handrianto *et al.*, 2012). Unsur C digunakan bakteri sebagai penyusun makromolekul sel misalnya protein, karbohidrat, asam nukleat, dan lipid. Semua molekul yang mengandung karbon ini terlibat dalam proses metabolisme. Tercukupinya kebutuhan nutrisi untuk perkembangbiakan bakteri ini akan menambah jumlah bakteri tersebut. Pertambahan jumlah dari bakteri ini akan memaksimalkan proses degradasi hidrokarbon *crude oil* sehingga penurunan konsentrasi hidrokarbon lebih optimum. Penambahan sampah organik juga berfungsi dalam meningkatkan struktur dan jaringan tanah (menggemburkan dan menahan air) sehingga dapat mendukung pertumbuhan tanaman dan organisme lain pada tanah dan menambah pori pada tanah sehingga meningkatkan aerasi (Chijioko-Osuji *et al.*, 2014; Atagana, 2008).

### **2.3 Biosurfaktan**

Biosurfaktan adalah surfaktan yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Secara struktural biosurfaktan mengandung berbagai molekul yang bersifat aktif yang disintesis oleh mikroorganisme. Biosurfaktan bersifat amfifatik, yaitu terdiri dari komponen hidrofilik dan hidrofobik. Bagian hidrofilik (kepala biosurfaktan) bersifat polar dan merupakan derivat dari ester, karbohidrat, asam amino, peptida siklis, fosfat, golongan alkohol fungsional dari lemak netral, atau asam karboksilat yang berfungsi mengikat molekul air. Sedangkan bagian hidrofobik (ekor) bersifat non polar umumnya berupa rantai hidrokarbon dari asam lemak, hidroksi asam

lemak, atau  $\alpha$ -alkil- $\beta$ -hidroksi asam lemak yang berfungsi untuk mengikat molekul minyak (Joshi *et al.*, 2008). Pada lingkungan berair, bagian ekor (hidrofobik) molekul amfifatik berkelompok berjajar membentuk daerah hidrofilik yang disebut bilayer atau misel. Misel adalah bentukan seperti bola yang tersusun dari kumpulan molekul amfifatik dengan ukuran tertentu. Sedangkan bilayer merupakan molekul amfifatik berlapis dua yang mempunyai panjang tidak terbatas. Bagian hidrofobik dari lemak hampir selalu berasal dari satu gugus hidrokarbon atau asam lemak jenuh atau tak jenuh dan mengandung struktur siklik atau gugus hidroksi. Sebagian besar biosurfaktan bermuatan netral atau negatif. Pada biosurfaktan anionik, muatan itu disebabkan oleh karboksilat dan atau fosfat atau kelompok sulfat. Sejumlah kecil biosurfaktan kationik mengandung gugus amina. Gugus hidrofilik biosurfaktan berupa karbohidrat, asam karboksilat, fosfat, asam amino, peptid siklik, ataupun alkohol. Gugus hidrofobik dapat berupa asam lemak rantai panjang ataupun alkil hidroksi asam lemak (Desai dan Banat, 1997).

Biosurfaktan merupakan produk metabolisme ekstraseluler yang terikat pada bagian - bagian sel. Peran fisiologis biosurfaktan bagi mikroba penghasilnya antara lain berperan dalam emulsifikasi atau pelarutan substrat yang tidak larut air, membantu pelekatan sel pada kondisi lingkungan yang baru, terlibat dalam patogenesis, dan memiliki aktivitas anti-mikroba (Joshi *et al.*, 2008). Dengan adanya biosurfaktan, substrat yang berupa cairan akan teremulsi dibentuk menjadi misel-misel, dan menyebarkannya ke permukaan sel bakteri. Substrat yang padat dipecah oleh biosurfaktan, sehingga lebih mudah masuk ke dalam sel.

Biosurfaktan mempunyai sifat yang mirip seperti surfaktan sintetik, namun biosurfaktan memiliki tingkat toksisitas yang lebih rendah, mudah terurai secara biologi, lebih efektif pada suhu, pH dan kadar garam yang berlebihan, dan lebih mudah disintesis. Sifat aktif permukaan yang dimiliki biosurfaktan berbeda dengan surfaktan sintesis. Biosurfaktan mempunyai banyak struktur, sebagian besar adalah lemak yang memiliki ciri struktur surfaktan amfifilik. Bagian lipofil dari lemak hampir selalu gugus hidrokarbon dari satu atau lebih asam lemak jenuh atau tak jenuh dan mengandung struktur siklik atau gugus hidroksi. Sebagian besar biosurfaktan bermuatan netral atau negatif (Lin Soo *et al.*, 2003).

Biosurfaktan dapat menyebabkan komponen molekul minyak yang terkandung dalam minyak bumi menjadi larut dalam air dan dapat mengemulsi minyak dalam air (*oil in water*) atau air dalam minyak (*water in oil*), sedangkan kandungan lipid yang tidak larut dalam air akan didegradasi oleh enzim lipase menjadi produk yang larut air. Penambahan *crude enzyme* lipase akan mengkatalis hidrolisis ikatan ester dalam substrat lipid yang tidak larut air menjadi larut air kemudian biosurfaktan membantu mengemulsikan senyawa hidrokarbon yang telah terpecah oleh enzim lipase sehingga lebih mudah melarutkan minyak. (Pratiwi, 2012).

### **2.3.1 Karakteristik Biosurfaktan**

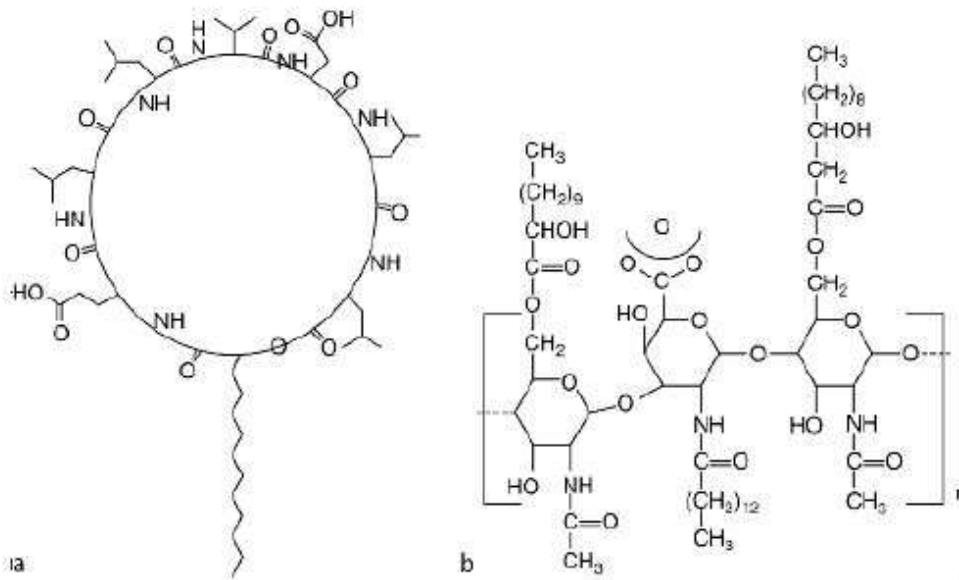
Biosurfaktan mempunyai beberapa sifat antara lain tensioaktif, menghasilkan buih atau busa membuat emulsi minyak dalam air atau air dalam minyak yang berperan seperti surfaktan sintesis. Bagian hidrofobik dari molekul amfifatik dibentuk oleh asam lemak yang percabangan dan panjang rantainya berbeda satu dengan spesies yang lain. Cabang yang mengandung gugus asam lemak akan berikatan dengan cabang yang mengandung gugus asam amino. Bagian hidrofilik dari molekul amfifilik umumnya berupa peptida siklik yang mengandung tujuh asam amino (Duvnjak, 1983).

Karakteristik utama biosurfaktan adalah kemampuannya dalam membentuk misel yang meliputi beberapa karakter yaitu kemampuannya menurunkan tegangan permukaan air, stabilitas emulsi pada berbagai hidrokarbon, nilai *Critical Micelle Concentration* (CMC) dan *Critical Micelle Dilution* (CMD), dan stabilitas biosurfaktan terhadap perubahan pH dan suhu bermanfaat untuk mengetahui efektivitas biosurfaktan dalam aplikasinya diberbagai bidang industri dan usaha perlindungan lingkungan (Duvnjak, 1983).

### **2.3.2 Pembentukan Biosurfaktan**

Biosurfaktan sebagian besar diproduksi oleh mikroorganisme seperti bakteri, ragi (khamir) dan kapang secara biotransformasi sel. Beberapa mikroba dapat menghasilkan surfaktan pada saat tumbuh pada berbagai substrat yang berbeda, mulai dari karbohidrat sampai hidrokarbon. Perubahan substrat seringkali

mengubah juga struktur kimia dari produk sehingga akan mengubah sifat surfaktan yang dihasilkan. Beberapa mikroorganisme juga ada yang menghasilkan enzim dan dapat digunakan sebagai katalis pada proses hidrolisis, alkoholisis, kondensasi, asilasi atau esterifikasi (Lin Soo *et al.*, 2003).



Gambar 2.1. Struktur siklik lipopeptid surfaktan

(a) dari *Bacillus Sp.* (b) dari *Acinetobacter* (Kakinuma *et al.*, 1969).

Pengelompokan biosurfaktan terutama didasarkan pada komposisi kimia dan mikroba penghasilnya. Secara umum, gugus hidrofilik terdiri atas asam amino atau peptida dan gugus hidrofobik mengandung lemak jenuh, tak jenuh atau asam lemak. Kelompok utama biosurfaktan terdiri atas glikolipid, lipopeptida dan lipoprotein, fosfolipid dan asam lemak, surfaktan polimer, dan surfaktan partikulat. Rhamnolipid, biosurfaktan dari kelompok glikolipid merupakan jenis yang paling banyak dipelajari dan dikarakterisasi. Glikolipid mengandung karbohidrat seperti soforosa, trehalosa atau rhamnosa yang tergabung ke asam alifatik rantai panjang atau lipopeptida (Singh 2012).

Mikroba menghasilkan biosurfaktan yang bervariasi. Ron dan Rosenberg (2001) mengklasifikasikan biosurfaktan menjadi dua, yaitu biosurfaktan dengan berat molekul besar dan berat molekul kecil.

a. Biosurfaktan dengan berat molekul kecil

Biosurfaktan yang memiliki berat molekul kecil pada umumnya jenis glikolipid atau lipopeptida. Berdasarkan penelitian glikolipid *bioemulsifier*, rhamnolipids, trehalolipids, dan sophorolipids adalah disakarida yang bergabung dengan asam lemak berantai panjang atau hidroksi asam lemak. Trehalose lipid teridentifikasi sebagai surfaktan ketika trehalose dimikolat ditemukan pada lapisan emulsi pada kultur cair *Arthrobacter paraffineus* ketika sel bakteri ditumbuhkan pada substrat hidrokarbon. Glikolipid ditemukan pada banyak jenis mikroorganisme seperti pada *Rhodococcus erythropolis* atau pada *Torulopsis*. Rhamnolipid yang diproduksi pada beberapa spesies dari *Pseudomonas* sp. *Bacillus subtilis* menghasilkan lipopeptida siklik (surfaktin).

b. Biosurfaktan dengan berat molekul besar

Sejumlah besar spesies bakteri dari genus yang berbeda memproduksi ekstraselular surfaktan polimer yang mengandung polisakarida, protein, lipopolisakarida, lipoprotein atau campuran kompleks dari biopolimer-biopolimer ini. *Acinetobacter* sp. memproduksi bioemulsan. *Acinetobacter calcoaceticus* RAG-1 menghasilkan polianionik amfifatik heteropolisakarida bioemulsifier yang disebut emulsan. Emulsan sangat efektif mengemulsi hidrokarbon pada air dengan konsentrasi yang sangat rendah 0,001-0,01 %. Selain itu emulsan dikenal sebagai salah satu penstabil emulsi yang sangat kuat dengan kemampuan mempertahankan percampuran bahkan pada rasio air : minyak yaitu 1 : 4 (Ron dan Rosenberg, 2001).

Aktivitas mikroba terjadi pada lapisan permukaan dari partikel sampah padat organik selama proses *composting* yang mengindikasikan kondisi fisik-kimia yang baik pada sampah dan dapat meningkatkan efisiensi proses *composting* (Tom, 1998). Pada umumnya, parameter-parameter yang diperhatikan dalam proses *composting* adalah kontrol rasio C/N, kelembaban, kandungan oksigen, temperatur, dan porositas. Parameter-parameter tersebut dapat memperbaiki kondisi lingkungan guna meningkatkan efisiensi degradasi polutan (Clarence, 1987). Namun, terdapat cara lain untuk meningkatkan efektifitas dari proses *composting*, yaitu dengan memanfaatkan biosurfaktan yang dihasilkan oleh mikroorganisme selama proses *composting*.

Biosurfaktan merupakan material yang diproduksi oleh berbagai jenis mikroorganisme yang dapat merespon senyawa organik hidrofobik (Miller, 1995). Mikroba yang terdapat pada sampah padat organik yang menjadi bahan dasar *composting* berpotensi menghasilkan metabolit berupa biosurfaktan yang mampu mendegradasi polutan hidrokarbon. Biosurfaktan yang dihasilkan selama proses

Tabel 2.1. Biosurfaktan yang dihasilkan mikroba (Desai dan Banat, 1997).

<b>Surfaktan</b>	<b>Mikroba penghasil</b>
Glycolipid	
Rhamnoilipid	<i>Pseudomonas</i> sp. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Trehalolipid	<i>Rhodococcus erythropolis</i> <i>Nocardia erythropolis</i> <i>Mycobacterium</i> sp.
Sophorolipid	<i>Torulopsis apicola</i> <i>Torulopsis bombicola</i> <i>Torulopsis petrophilium</i>
Lipopeptida atau Lipoprotein	
Peptide-lipid	<i>Bacillus licheniformis</i>
Serrawettin	<i>Serratia marcescens</i>
Viscosin	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
Surfactin	<i>Bacillus subtilis</i>
Subtilisin	<i>Bacillus subtilis</i>
Gramicidins	<i>Bacillus brevis</i>
Polymyxins	<i>Bacillus polymyxa</i>
Asam lemak, lipid netral dan fosfolipid	
Asam lemak	<i>Candida lepus</i>
Lipid netral	<i>Nocardia erythropolis</i>
Fosfolipid	<i>Thiobacillus thiooxidan</i>

Surfaktan polimer	
Emulsan	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
Biodispersan	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
Mannan-lipid-protein	<i>Candida tropicalis</i>
Liposan	<i>Candida lipolytica</i>
Karbohidrat-protein-lipid	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
Protein PA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

*composting* juga dapat menurunkan viskositas minyak bumi yang pekat atau terperangkap sedemikian rupa di dalam batuan reservoir sehingga kemampuannya untuk terbasuh dalam air atau terangkat oleh pendesakan gas yang keluar dari reservoir meningkat (Volkering *et al*, 1998).

Biosurfaktan yang dihasilkan masing-masing mikroorganisme berbeda tergantung pada jenis mikroorganisme dan nutrisi yang dikonsumsinya. Parameter-parameter yang mempengaruhi proses produksi baik jenis maupun jumlah biosurfaktan adalah sumber karbon alami, kemungkinan keterbatasan nutrisi, parameter fisika dan kimia seperti aerasi, temperatur dan pH. Demikian pula untuk jenis mikroba yang sama, jumlah surfaktan yang dihasilkan berbeda berdasarkan nutrisi yang dikonsumsinya (Duvnjak *et al.*, 1983). Nutrisi merupakan hal yang sangat penting artinya bagi pertumbuhan mikroba termasuk bakteri penghasil biosurfaktan. Beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa elemen makro yang memegang peranan penting dalam menunjang pertumbuhan bakteri penghasil biosurfaktan adalah elemen karbon dan nitrogen (Horowitz *et al*, 2005). Perubahan substrat sering merubah struktur produk biosurfaktan, sehingga merubah sifat-sifat biosurfaktan yang dihasilkan. Karena itu pemilihan sumber karbon sangat ditentukan oleh tujuan kekhususan penggunaan. Cameotra dan Makkar (1998) melaporkan bahwa sejumlah kajian menunjukkan tentang jenis medium dan kondisi pertumbuhan bisa mempengaruhi jenis dan hasil biosurfaktan. Sumber karbon yang berbeda (yang larut di air) seperti gliserol, glukosa, mannitol dan ethanol yang digunakan untuk produksi rhamnolipid oleh *Pseudomonas sp* memberikan pengaruh terhadap produksi biosurfaktan. Oleh karenanya optimasi nutrisi menjadi penting dalam produksi biosurfaktan.

Selain faktor nutrisi, temperatur juga merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi produksi biosurfaktan. Biosurfaktan merupakan metabolit sekunder, dimana biasanya senyawa tersebut dipanen pada fase stasioner (Schlegel dan Hans, 1994).

### **2.3.3 Parameter Pengukuran Biosurfaktan**

Kemampuan biosurfaktan dapat ditentukan dengan pengukuran kondisi surfaktan secara umum menggunakan tegangan permukaan dan kemampuan emulsi

#### **2.3.3.1 Tegangan Permukaan**

Tegangan permukaan yaitu gaya tarik menarik antara molekul-molekul pada permukaan cairan dengan udara yang cenderung menggerakkan molekul-molekul tersebut menuju bagian pusat cairan sehingga menyebabkan cairan membentuk lapisan tipis. Sedangkan tegangan antar muka yaitu gaya tarik menarik antara dua fase yang berbeda polaritasnya (Hargreaves, 2003).

Salah satu contoh pengukuran tegangan permukaan yaitu pada metil ester sulfonate (MES) sebesar 30,13 dyne/cm, untuk MES yang dipasaran sebesar 29,98 dyne/cm dan SLS sebesar 30,20 dyne/cm. Sedangkan tegangan antar muka untuk MES yang dibuat (A) sebesar 15,88 dyne/cm, MES dari pasaran (B) sebesar 7,13 dyne/cm, dan SLS (C) sebesar 7,77 dyne/cm. Hal ini menunjukkan kemampuan dalam menurunkan tegangan antar muka minyak air untuk A sebesar 47,29%, B sebesar 76,21% dan C sebesar 74,27%. Hal ini disebabkan karena dalam proses sulfonasi, terikatnya gugus sulfonat dalam reaksi antara asam sulfat pada atom karbon metil ester. Semakin besar ikatan gugus sulfonat pada rantai karbon metil ester akan meningkatnya jumlah gugus hidrofilik dari MES. Gugus hidrofilik ini akan menurunkan gaya kohesi dari molekul air sehingga akan menurunkan tegangan permukaan (Hargreaves, 2003).

Penurunan tegangan antar muka akan menurunkan gaya kohesi dan sebaliknya meningkatkan gaya adhesi. Gaya kohesi adalah gaya antar molekul yang bekerja diantara molekul-molekul yang sejenis, sedangkan gaya adhesi adalah gaya antar molekul yang bekerja diantara molekul-molekul yang tidak sejenis. Gaya tolak-menolak bersifat menstabilkan emulsi karena gaya ini mempertahankan butiran dopret agar tetap terpisah (Suryani *et al.*, 2000).



Semakin banyak molekul *surfactant* yang terbentuk dapat membuat tegangan permukaan semakin menurun. Semakin banyaknya molekul *surfactant*, maka gaya kohesi air akan menurun. Molekul-molekul *surfactant* mempunyai kecenderungan untuk berada pada permukaan sebuah cairan. Akibat dari adanya *surfactant* adalah secara signifikan menurunkan jumlah total kerja untuk memperluas permukaan karena molekulnya mengikat fasa polar, yaitu air, dan non-polar, yaitu udara (Farn, 2006).

### **2.3.3.2 Aktivitas Emulsifikasi**

Emulsi adalah dispersi suatu larutan dalam larutan lainnya, pada umumnya adalah *water-in-oil* (w/o) atau *oil-in water* (o/w). Total daerah *interfase* (antar muka) dalam suatu emulsi sangat besar karena daerah *interfase* bergabung dengan energy positif bebas (tegangan antarmuka), maka sistem emulsi menjadi tidak stabil secara termodinamika. Tetapi ada kemungkinan untuk membentuk emulsi dengan stabilitas yang lama. Hal ini dapat dilakukan dengan penggunaan suatu emulsifier yang akan berakumulasi pada permukaan minyak/air dan membentuk lapisan energi (Claesson *et al.*, 2001).

*Emulsifier* dapat berupa *surfactant* anionik, zwitterionik, atau nonionik, protein, dan polimer (Holmberg *et al.*, 2002). Claesson (2001) menyatakan bahwa penambahan bahan pengemulsi yang cukup ke dalam campuran dua larutan akan terbentuk lapisan utuh antara kedua cairan tersebut yang dapat menurunkan tegangan permukaan, sehingga tetap stabil dan lama. Menurut Suryani *et al.* (2000), kestabilan emulsi pada suatu *surfactant* adalah kesetimbangan antara gaya tarik-menarik dan gaya tolak-menolak yang terjadi antar partikel dalam sistem emulsi. Apabila kedua gaya ini dapat dipertahankan tetap seimbang atau terkontrol, maka globula-globula fasa terdispersi dalam sistem emulsi dapat dipertahankan agar tidak bergabung. Adapun faktor-faktor yang menentukan kestabilan suatu emulsi adalah ukuran partikel dan distribusi, jenis emulsifier yang digunakan, rasio antara fasa terdispersi dan fasa pendispersi dan perbedaan tegangan antara dua fasa.

### **2.3.4 Potensi Biosurfaktan dalam Desorpsi Hidrokarbon**

Kelarutan hidrokarbon yang rendah membatasi ketersediaannya untuk mikroba yang merupakan masalah potensial dalam proses bioremediasi pada area yang terkontaminasi. Peningkatan efisiensi bioremediasi oleh biosurfaktan dapat melalui dua mekanisme, yang pertama meliputi peningkatan bioavailabilitas substrat untuk mikroba, dan kedua melibatkan interaksi dengan permukaan sel yang meningkatkan hidrofobisitas permukaan hidrofobik yang memungkinkan substrat untuk lebih mudah berasosiasi dengan sel bakteri (Pacwa-Płociniczak *et al.*, 2011). Banyak jenis surfaktan telah diteliti untuk mengetahui kemungkinan aplikasinya dalam proses biodegradasi kontaminan organik seperti HAP (Cameotra dan Makkar 2010).

Biosurfaktan menunjukkan kapasitas menghilangkan hidrokarbon yang lebih baik dibandingkan surfaktan sintesis. Franzetti *et al.* (2010) melaporkan, biosurfaktan jenis *Rhamnolipids* dan *Surfactin*, telah dievaluasi peranannya dalam membersihkan tanah yang terkontaminasi oleh minyak mentah. Pada beberapa kasus, efisiensi penghilangan sangat tinggi mencapai 80%. Efisiensi ini tergantung pada waktu kontak dan konsentrasi biosurfaktan.

Biosurfaktan juga diketahui dapat memacu pertumbuhan bakteri pendegradasi minyak dan meningkatkan kemampuannya untuk memanfaatkan hidrokarbon (Ron dan Rosenberg 2001). Bakteri *Gordonia* BS29 diketahui mampu tumbuh pada hidrokarbon alifatik sebagai karbon tunggal dan menghasilkan Bioemulsan yang efektif mendegradasi minyak mentah, HAP dan hidrokarbon rekalsitran lainnya dari tanah yang terkontaminasi (Franzetti *et al.* 2010). Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* galur NY3 yang diisolasi dari sampel tanah yang terkontaminasi minyak bumi dilaporkan sebagai isolat baru yang mampu menghasilkan biosurfaktan rhamnolipid dan juga mendegradasi senyawa HAP. Bakteri galur NY3 tidak hanya mampu menghasilkan rhamnolipid dengan beragam struktur, akan tetapi juga mampu menurunkan konsentrasi lima jenis substrat HAP yaitu fenantrena, fluorena, antrasena, fluoranthena dan pirena (Nie *et al.*, 2010). Sementara bakteri *Pseudomonas* sp IR1 dilaporkan mampu menghasilkan biosurfaktan serta mendegradasi campuran senyawa HAP yang terdiri atas naftalena, dibenzotiofena, pirena dan fenantrena (Kumar *et al.*, 2006).

Biosurfaktan mengandung gugus hidrofobik dan hidrofilik yang berfungsi menurunkan tegangan permukaan molekul. Produksi biosurfaktan oleh bakteri sering dikaitkan dengan kemampuan bakteri dalam menggunakan senyawa hidrokarbon sebagai substratnya. Mikroorganisme dengan produksi biosurfaktan yang besar pada umumnya mempunyai kemampuan yang besar juga dalam menguraikan senyawa hidrokarbon; mikroorganisme yang demikian sangat berpotensi untuk digunakan dalam mengurangi cemaran minyak (Satpute *et al.*, 2010). Bakteri hidrokarbonoklastik merupakan bakteri yang mampu menghasilkan biosurfaktan dan menggunakan hidrokarbon sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi (Cerniglia, 1992).

Biosurfaktan yang dieksresikan ke lingkungan dapat membantu melepaskan senyawa hidrokarbon dalam senyawa organik dan meningkatkan konsentrasi senyawa hidrokarbon dalam air melalui pelarutan ataupun emulsifikasi. Dengan teremulsikannya hidrokarbon maka akan meningkatkan kinerja bakteri dalam mendegradasi hidrokarbon (Satpute *et al.*, 2010). Terdapat dua faktor penting dalam oksidasi hidrokarbon oleh bakteri penghasil biosurfaktan, yaitu sintesis enzim *oksidase* dan kontak antara mikroba dengan air dan hidrokarbon yang tidak larut air dengan bantuan biosurfaktan yang dihasilkan oleh mikroba tersebut. Tahap pertama degradasi hidrokarbon oleh mikroba adalah reaksi antara molekul oksigen dan hidrokarbon dengan bantuan enzim oksigenase. Tahap berikutnya yaitu dengan dua mekanisme pengambilan substrat oleh bakteri. Pertama, pengambilan substrat dilakukan pada saat hidrokarbon telah mengalami emulsifikasi oleh biosurfaktan yang dihasilkannya. Kemudian pengambilan substrat dilakukan setelah sel mengalami kontak langsung dengan hidrokarbon melalui mekanisme adhesi fisik. Kontak ini terjadi ketika mikroba mengeksresi biosurfaktan akibat respon dari keberadaan hidrokarbon (Rosenberg *et al.*, 1993).

Biosurfaktan yang dihasilkan oleh mikroba dapat menurunkan tegangan permukaan dan meningkatkan luas daerah kontak antara hidrokarbon dan mikroorganisme melalui pembentukan misel, pelarutan dan emulsifikasi hidrokarbon serta pembebasan tetesan minyak. Misel yang terbentuk berfungsi sebagai paket transport hidrokarbon dan mempermudah mikroba dalam memperoleh nutrisi bagi pertumbuhannya sehingga pertumbuhan sel menjadi lebih

baik. Misel adalah agregat molekul aktif permukaan yang membentuk fase non-polar dalam larutan air (Rosenberg *et al.*, 1993). Eruke dan Udoh (2015) menyatakan, peran biosurfaktan dalam meningkatkan efektivitas biodegradasi hidrokarbon terjadi melalui dua tahap, yaitu (1) meningkatkan bioavailabilitas hidrokarbon bagi bakteri ; (2) meningkatkan interaksi permukaan sel sehingga hidrokarbon dapat lebih mudah berasosiasi dengan sel bakteri.

Pemanfaatan biosurfaktan pada tanah terkontaminasi minyak bumi diharapkan mampu meningkatkan kelarutan hidrokarbon sehingga dapat didegradasi oleh mikroba hingga pada batas aman bagi lingkungan. Hasil penelitian Ni'matuzahroh *et al.* (2009) menyebutkan bahwa penambahan biosurfaktan *Pseudomonas putida* TI (8) dalam bioremediasi tanah tercemar minyak mentah, mampu membantu menurunkan kadar minyak hingga 50 % hanya dalam waktu 30 hari inkubasi. Sementara itu, pada penelitian Widodo (2010) dalam uji mobilisasi minyak mentah dengan metode *sand pack column*, diperoleh hasil bahwa biosurfaktan pada *Acinetobacter* sp. P2(1) mempunyai efektivitas daya mobilisasi minyak sebesar 48,62 % pada konsentrasi sama dengan *critical micelle concentration/CMC* (=CMC) dan waktu inkubasi 24 jam. Yuliani (2004) telah berhasil mengisolasi biosurfaktan dari isolat lokal *Bacillus subtilis* 3KP yang ditumbuhkan pada substrat molase dengan konsentrasi 2 g/L. Biosurfaktan yang dihasilkan *Bacillus subtilis* 3KP mampu menurunkan tegangan permukaan supernatan kultur mencapai 31,1 dyne/cm (Ulum, 2004). Kemampuan biosurfaktan dalam melarutkan hidrokarbon minyak dipengaruhi oleh karakteristik biosurfaktan.

#### **2.4 Tween 80**

Tween 80 adalah ester asam lemak polioksietilen sorbitan, dengan nama kimia polioksietilen 20 sorbitan monooleat. Penamaan tersebut dikarenakan Tween 80 atau Polysorbate 80 juga merupakan ester oleat dari sorbitol di mana tiap molekul anhidrida sorbitolnya berkopolimerisasi dengan 20 molekul etilenoksida. Rumus molekul Tween 80 adalah C<sub>64</sub>H<sub>124</sub>O<sub>26</sub> dengan rumus struktur pada Gambar 2.10. Tween 80 berupa cairan kental berwarna kuning dan agak pahit (Rowe *et al.*, 2009). Secara spesifik pada suhu 25°C, Tween 80 berwujud cair,

berwarna kekuningan dan berminyak, memiliki aroma yang khas, dan berasa pahit. Larut dalam air dan etanol, tidak larut dalam minyak mineral.

Pemanfaatan Tween 80 antara lain sebagai zat pembasah, emulgator, dan peningkat kelarutan. Tween 80 juga berfungsi sebagai peningkat penetrasi (Rowe, 2009). Tween 80 dalam penggunaannya sebagai *emulsifying agent* pada emulsi tipikal tipe minyak dalam air, dikombinasikan dengan emulsifier hidrofilik pada emulsi minyak dalam air, dan untuk menaikkan kemampuan menahan air pada salep, dengan konsentrasi 1-15% sebagai solubilizer. Tween 80 digunakan secara luas pada kosmetik sebagai *emulsifying agent* (Smolinske, 1992). Tween 80 larut dalam air dan etanol (95%), namun tidak larut dalam mineral oil dan *vegetable oil*. Aktivitas anti mikroba dari pengawet golongan paraben dapat mengurangi jumlah *polysorbate* (Rowe *et al.*, 2009).

Salah satu kondisi yang membatasi proses biodegradasi senyawa hidrokarbon adalah tingkat kelarutan dari senyawa tersebut yang menyebabkan penurunan efisiensi serta laju degradasi. Keterbatasan tersebut dapat diatasi dengan penambahan senyawa aktif permukaan ke dalam sistem sehingga akan meningkatkan kelarutan senyawa hidrokarbon untuk didegradasi oleh mikroorganisme. Penambahan *surfactant* berupa *biosurfactant* dan Tween 80 mampu meningkatkan kelarutan polutan sehingga menjadi lebih tersedia untuk digunakan mikroorganisme. Hal tersebut ditunjukkan dengan efisiensi pemisahan TPH dalam reaktor dengan penambahan *biosurfactant* dan reaktor penambahan Tween 80 sebesar 65,1% dan 73,8% dimana lebih besar dari reaktor kontrol yang hanya mampu menurunkan konsentrasi TPH sebesar 24,3% (Helmy *et al.*, 2011).

## **2.5 Soil Washing**

*Soil washing* merupakan proses reduksi volume atau minimisasi limbah dimana partikel tanah yang mengandung mayoritas kontaminan dipisahkan dari fraksi *bulk* tanah, atau kontaminan disisihkan dari tanah dengan larutan kimia dan di-*recovery* dari larutan dalam bentuk substrat padat. Di kedua metode, kontaminan yang telah disisihkan akan dibuang ke *landfill* bahan berbahaya dan beracun (B3) (atau akan diolah lebih lanjut dengan proses kimia, *thermal* atau biologis) (ITRC, 1997).

Terdapat banyak faktor yang harus dipertimbangkan dalam pemilihan metode *soil washing* sebagai teknik remediasi tanah terkontaminasi minyak. Teknologi *soil washing* dapat digunakan secara independen atau digabungkan dengan teknologi pengolahan lainnya. Berikut ini adalah beberapa faktor seleksi untuk penerapan teknologi *soil washing* menurut ITRC (1997), tetapi satu faktor tidak dapat digunakan secara independen untuk mengeliminasi kemampuan aplikasi *soil washing* pada lahan tercemar.

- a. *Soil washing* dianggap efektif dalam pengolahan kontaminan organik ataupun anorganik dalam jangkauan variasi yang besar termasuk logam berat, *radionuclides*, sianida, *polynuclear aromatic compounds*, pestisida dan PCB.
- b. *Soil washing* sangat cocok digunakan jika tanah terdiri dari 50 sampai 70 persen pasir (*sands*). Biaya *soil washing* akan menjadi tidak efektif untuk tanah dengan kandungan *fines (silt/clay)* lebih dari 30 sampai 50 persen.
- c. Umumnya, biaya *on-site treatment* dengan teknik *soil washing* tidak akan efektif kecuali lahan terdiri dari setidaknya 5000 ton tanah tercemar minyak.
- d. Ruang yang dibutuhkan dapat bervariasi berdasarkan desain sistem *soil washing*, sistem pengangkutan dan logistik lahan. Unit dengan kemampuan pengolahan sebesar 20 ton per jam dapat ditempatkan dalam luas lahan sebesar setengah *acre*, termasuk lahan untuk tahap tanah yang belum diolah dan telah diolah. Beberapa sistem mungkin membutuhkan ruang tambahan, tergantung pada desain sistem.

## 2.6 Penelitian Pendahuluan

Sebelum dilakukan penelitian ini telah dilakukan penelitian pendahuluan oleh peneliti terdahulu yaitu Barakwan (2017). Penelitian pendahuluan meliputi proses *composting* dalam penyisihan kandungan hidrokarbon pada tanah terkontaminasi *crude oil* di pertambangan minyak rakyat Desa Wonocolo Kabupaten Bojonegoro. Output dari penelitian pendahuluan tersebut yaitu komposisi optimum dalam proses *composting* yang menghasilkan penyisihan hidrokarbon terbesar dari tanah tercemar. Penelitian pendahuluan ini juga bertujuan untuk mendapatkan sumber konsorsium bakteri dari empat bahan baku *composting* berupa sampah kebun, rumen sapi, campuran sampah kebun dan rumen sapi, dan tanah terkontaminasi

minyak bumi. Konsorsium bakteri dari keempat sumber tersebut akan digunakan pada penelitian ini sebagai sumber penghasil biosurfaktan.

Penelitian diawali dengan menyiapkan sampah organik dan sampel tanah tercemar *crude oil* yang telah diayak. Kadar air tanah dan sampah organik dikondisikan sebesar 50%-60% dengan cara melakukan pengukuran berkala. Ketiga variasi jenis sampah organik disiapkan yaitu berupa sampah kebun, sampah RPH (rumen sapi lokal), dan campuran sampah kebun dan RPH (rumen sapi lokal). Variasi jenis sampah organik ketiga yaitu campuran antara sampah kebun dan sampah RPH (rumen sapi lokal) dicampur dan diaduk hingga merata dengan rasio sesuai perhitungan analisis rasio C/N sampah campuran. Sampah organik dan sampel tanah tercemar *crude oil* dicampur dan diaduk hingga homogen sesuai dengan variasi komposisi yang ditetapkan. Campuran tersebut dimasukkan ke dalam masing-masing reaktor kaca sebanyak 1 kg berat basah.

Variasi yang dilakukan pada penelitian pendahuluan ini adalah jenis sampah organik untuk bahan kompos dan variasi persen komposisi antara tanah tercemar *crude oil* dan sampah organik pada *composting*. Variasi jenis sampah organik yang digunakan adalah sampah kebun, sampah RPH (rumen sapi lokal), dan campuran sampah kebun dan RPH (rumen sapi lokal), sedangkan variasi persen komposisi antara tanah tercemar *crude oil* dan sampah organik yang digunakan pada penelitian ini adalah (50%:50%), (75%:25%), dan (87,5%:12,5%). Penggunaan variasi awal sebesar 50%:50% mengacu pada Kepmen LH no. 128 tahun 2003 bahwa remediasi tanah tercemar *crude oil* dengan penambahan bahan organik disarankan perbandingan komposisi tanah dan bahan organik adalah 1:1. Atagana (2008) menyatakan bahwa *composting* tanah terkontaminasi TPH dengan menggunakan campuran lumpur dari saluran air limbah dan sampah kebun dengan perbandingan 50%:50% selama 2 bulan dapat mendegradasi TPH sebesar 67,8%. Kontrol yang digunakan adalah satu reaktor 100% tanah tercemar *crude oil* saja dan tiga reaktor masing-masing berisi 100% sampah kebun, sampah RPH, dan campuran sampah kebun dan sampah RPH.

Penelitian menggunakan pengulangan sebanyak dua kali (duplo), sehingga jumlah total reaktor adalah 26 buah. Pengulangan sebanyak dua kali ini bertujuan sebagai pembanding hasil penelitian, untuk menghindari bias, dan sebagai reaktor

cadangan jika terjadi kerusakan reaktor atau kesalahan dalam analisa (Sinaga dan Trihadiningrum, 2015). Analisis duplo juga bertujuan untuk memperoleh data yang presisi dari rata-rata keduanya dan dipilih reaktor dengan hasil yang standar deviasinya  $\leq 2\%$  (Harmita, 2004).

Tabel 2.2 Variasi pada reaktor penelitian pendahuluan

Perbandingan % Komposisi Berat Basah Tanah Tercemar <i>Crude Oil</i> dan Sampah Organik (T:S)	Reaktor		
	Sampah Kebun	Sampah RPH	Sampah Kebun + Sampah RPH
50% : 50%	KK1	KR1	KKR1
75% : 25%	KK2	KR2	KKR2
87,5% : 12,5%	KK3	KR3	KKR3
0% : 100%	KK100	KR100	KKR100
100% : 0%	T100		

Sumber: Barakwan, 2017

Keterangan:

KK = Kompos tanah dan sampah kebun

KR = Kompos tanah dan sampah RPH

KKR = Kompos tanah dan campuran sampah kebun dengan RPH

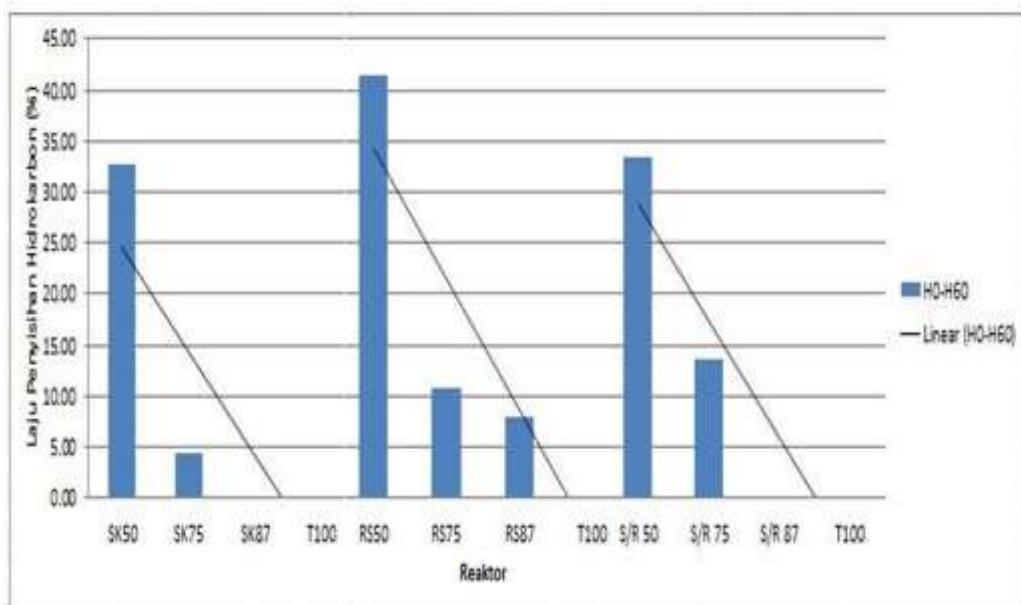
T100 = Reaktor kontrol (tanah tercemar *crude oil*)

Proses *composting* ini dilakukan selama 60 hari dalam reaktor berupa gelas kaca dengan kapasitas 3.500 mL. Penggunaan bahan kaca bertujuan untuk menghindari kontaminasi TPH dengan hidrokarbon dari polimer lain (US-EPA, 2007). Selama proses *composting* dilakukan pengadukan bahan secara manual setiap 3 hari sekali pada setiap reaktor guna mencapai kondisi aerobik dengan kadar udara 15-20% (Liu *et al.*, 2011). Ketersediaan udara juga dibantu dengan penggunaan kasa aluminium pada bagian penutup reaktor sehingga memudahkan sirkulasi udara dari dalam dan luar. Sirkulasi udara berfungsi untuk pelepasan gas CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O yang terbentuk selama proses *composting* berlangsung. pH tanah yang digunakan dalam proses ini sesuai dengan kondisi eksisting. Sedangkan



kelembaban pada bahan *composting* diatur untuk memenuhi kondisi optimum seperti yang dikemukakan yaitu 50-60% (Antizar-Ladislao dan Russell, 2007). Apabila kelembaban kurang dari 50% maka akan ditambahkan air dalam bahan *composting*. Namun, apabila kelembaban meningkat menjadi lebih dari 60% maka dalam proses pengadukan, bahan *composting* akan dikeluarkan untuk dianginkan sehingga kandungan airnya berkurang.

Kandungan hidrokarbon dianalisis pada hari ke-0, 20, 40 dan 60 pada masing-masing reaktor sehingga dapat diketahui penyisihan hidrokarbon dari masing-masing variasi yaitu 87%:17%, 50%: 50% dan 75%:25%. Penyisihan hidrokarbon tertinggi terdapat pada semua reaktor dengan komposisi T/S 50:50 pada ketiga jenis sampah dengan kadar hidrokarbon terendah adalah pada reaktor S/R50 (T:S/50:50) dengan jenis sampah campuran sampah kebun dan rumen sapi. Laju penyisihan hidrokarbon dapat dilihat pada Gambar 2.1. Hasil analisis menunjukkan pada hari ke-20 proses *composting*, persentase hidrokarbon mengalami kenaikan. Menurut Mizwar dan Trihadiningrum (2016), keberadaan biosurfaktan dan senyawa cHAL pada proses *composting* menjadi penyebab penyisihan hidrokarbon. Biosurfaktan dan cHal memiliki peran dalam meningkatkan pemisahana hidrokarbon dari partikel tanah pada hari ke-20.



Gambar 2.2 Laju penyisihan hidrokarbon (Barakwan, 2017).

Pengujian dan analisis ANOVA *Two way* data pada pengaruh komposisi dan jenis sampah organik terhadap penyisihan hidrokarbon dalam proses composting tanah tercemar *crude oil* yang diolah dengan perangkat lunak yaitu Minitab 16. Mengacu pada hasil uji statistik Anova *Two Way* didapatkan hasil bahwa tidak ada pengaruh secara signifikan pada variasi jenis sampah dan variasi komposisi tanah dan sampah serta interaksi antara variasi jenis sampah dan variasi komposisi tanah dan sampah terhadap penyisihan hidrokarbon. Selain itu hasil uji statistik tersebut menunjukkan bahwa kadar hidrokarbon terkecil yaitu pada rasio komposisi tanah dan sampah organik *biodegradable* sebesar 50:50.

## **BAB 3**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Gambaran Umum**

Salah satu metode untuk menyisihkan kandungan hidrokarbon pada tanah terkontaminasi minyak bumi adalah dengan metode *composting*. *Composting* merupakan proses dekomposisi yang terdiri dari dua jenis limbah yang diinkubasi bersama dengan tanah terkontaminasi. Selama proses *composting* terdapat bakteri yang menghasilkan biosurfaktan yang dapat membantu proses desorpsi hidrokarbon pada tanah terkontaminasi minyak bumi.

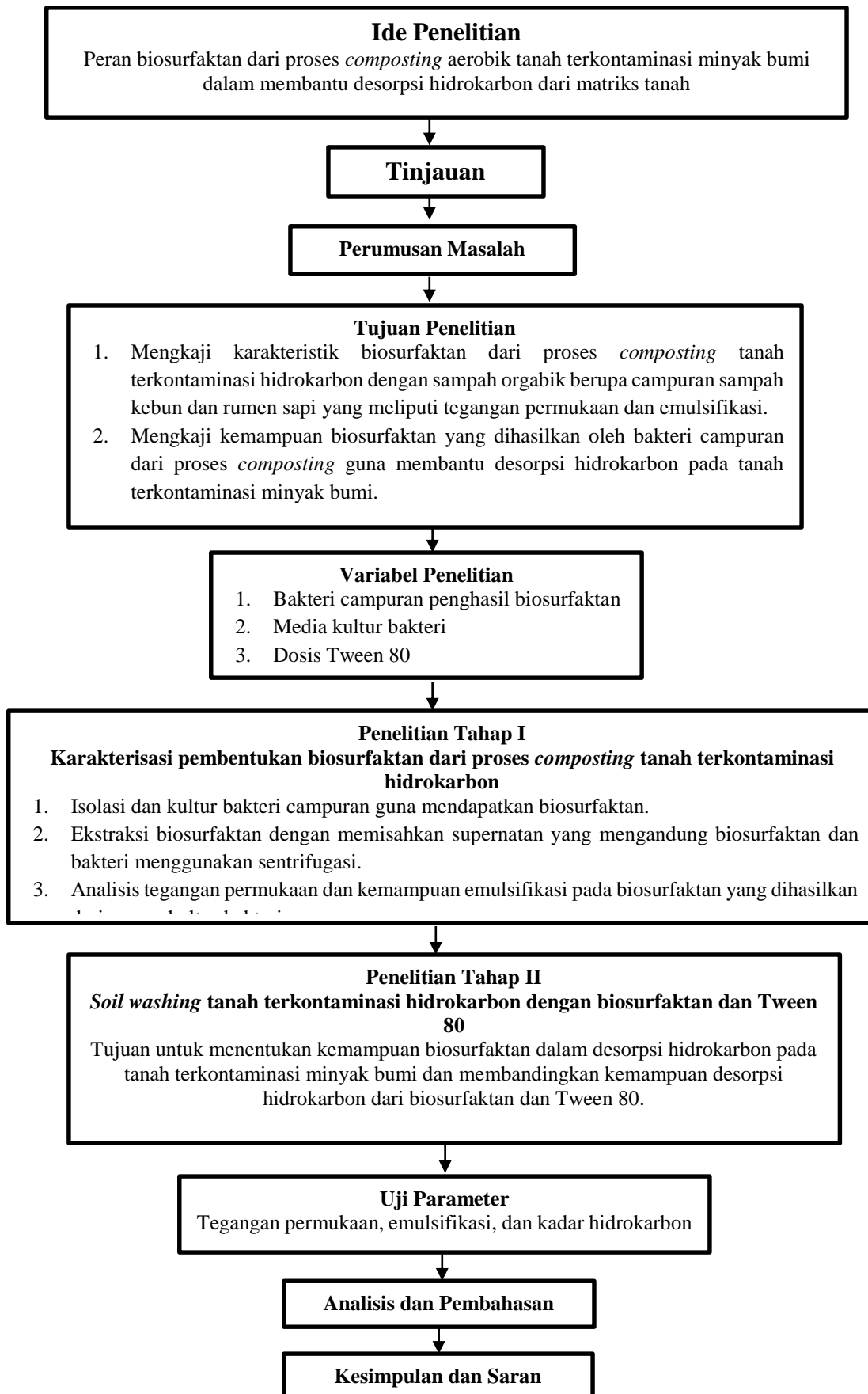
Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental skala laboratorium. Penelitian dilaksanakan di Workshop Penelitian dan Laboratorium Limbah Padat dan B3, Jurusan Teknik Lingkungan, FTSP-ITS. Sampel tanah terkontaminasi minyak bumi yang digunakan pada penelitian ini berasal dari area pertambangan minyak bumi rakyat Wonocolo di Kabupaten Bojonegoro, Jawa Timur. Sampah organik *biodegradable* sebagai bahan baku kompos berupa sampah kebun dan rumen sapi lokal. Sampah kebun dan rumen sapi lokal yang digunakan berasal dari Rumah Kompos ITS, Surabaya dan RPH Pegirian, Surabaya.

#### **3.1 Kerangka Penelitian**

Kerangka penelitian merupakan gambaran awal tahap-tahap penelitian. Kerangka penelitian bertujuan untuk memudahkan penelitian dan penyusunan laporan serta mengetahui hal-hal yang berkaitan dengan penelitian agar tujuan penelitian dapat tercapai. Kerangka penelitian yang berupa diagram alir dapat dilihat pada Gambar 3.1.

#### **3.2 Penelitian Tahap I**

Penelitian dilakukan dalam skala laboratorium yang dirancang secara *factorial design*. Penelitian tahap I bertujuan untuk mengkaji karakteristik biosurfaktan dari proses *composting* tanah terkontaminasi minyak bumi. Faktor rancangan percobaan meliputi sumber bakteri campuran penghasil biosurfaktan dan



Gambar 3.1 Kerangka metode penelitian

media kultur bakteri. Faktor rancangan sumber bakteri campuran penghasil biosurfaktan terdiri atas empat level rancangan yaitu hasil pengomposan tanah terkontaminasi minyak bumi dan sampah organik (sampah kebun dan rumen sapi) dengan perbandingan 50:50 (TS), sampah kebun (SK), rumen sapi (RS), dan tanah terkontaminasi minyak bumi dari pertambangan rakyat Desa Wonocolo, Kabupaten Bojonegoro (T) yang diambil pada hari ke 0, 20, 40, dan 60 proses *composting*. Faktor rancangan kedua yaitu media yang digunakan untuk kultur bakteri terdiri atas tiga level rancangan yaitu ekstrak sampah organik, minyak bumi dari pertambangan rakyat Desa Wonocolo, serta campuran ekstrak sampah organik dan minyak bumi. Penelitian dilakukan dengan 2 kali pengulangan (duplo) pada setiap perlakuan sehingga terdapat 96 satuan percobaan yang secara lengkap dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Faktor rancangan percobaan penelitian tahap I

Faktor Rancangan		Kode Reaktor	Jumlah Reaktor	
Sumber Bakteri Campuran Hasil <i>Composting</i>	Media Kultur Bakteri			
Tanah terkontaminasi/Sampah, rasio 50:50 (TS)	H-0	Ekstrak Sampah Organik	TS <sub>0</sub> (0)	2
	H-20		TS <sub>0</sub> (20)	2
	H-40		TS <sub>0</sub> (40)	2
	H-60		TS <sub>0</sub> (60)	2
	H-0	Minyak Bumi	TS <sub>2</sub> (0)	2
	H-20		TS <sub>2</sub> (20)	2
	H-40		TS <sub>2</sub> (40)	2
	H-60		TS <sub>2</sub> (60)	2
	H-0	Ekstrak Sampah Organik dan Minyak Bumi	TS <sub>02</sub> (0)	2
	H-20		TS <sub>02</sub> (20)	2
	H-40		TS <sub>02</sub> (40)	2
	H-60		TS <sub>02</sub> (60)	2
Sampah Kebun (SK)	H-0	Ekstrak Sampah Organik	SK <sub>0</sub> (0)	2
	H-20		SK <sub>0</sub> (20)	2
	H-40		SK <sub>0</sub> (40)	2
	H-60		SK <sub>0</sub> (60)	2
	H-0	Minyak Bumi	SK <sub>2</sub> (0)	2
	H-20		SK <sub>2</sub> (20)	2
	H-40		SK <sub>2</sub> (40)	2
	H-60		SK <sub>2</sub> (60)	2
	H-0	Ekstrak Sampah Organik dan Minyak Bumi	SK <sub>02</sub> (0)	2
	H-20		SK <sub>02</sub> (20)	2
	H-40		SK <sub>02</sub> (40)	2
	H-60		SK <sub>02</sub> (60)	2

(Lanjutan)

Faktor Rancangan		Kode Reaktor	Jumlah Reaktor	
Sumber Bakteri Campuran Hasil <i>Composting</i>	Media Kultur Bakteri			
Rumen Sapi (RS)	H-0	Ekstrak Sampah Padat Organik	RS <sub>0</sub> (0)	2
	H-20		RS <sub>0</sub> (20)	2
	H-40		RS <sub>0</sub> (40)	2
	H-60		RS <sub>0</sub> (60)	2
	H-0	Minyak Bumi	RS <sub>2</sub> (0)	2
	H-20		RS <sub>2</sub> (20)	2
	H-40		RS <sub>2</sub> (40)	2
	H-60		RS <sub>2</sub> (60)	2
	H-0	Ekstrak Sampah Organik dan Minyak Bumi	RS <sub>02</sub> (0)	2
	H-20		RS <sub>02</sub> (20)	2
	H-40		RS <sub>02</sub> (40)	2
	H-60		RS <sub>02</sub> (60)	2
Tanah terkontaminasi minyak bumi (T)	H-0	Ekstrak Sampah Padat Organik	T <sub>0</sub> (0)	2
	H-20		T <sub>0</sub> (20)	2
	H-40		T <sub>0</sub> (40)	2
	H-60		T <sub>0</sub> (60)	2
	H-0	Minyak Bumi	T <sub>2</sub> (0)	2
	H-20		T <sub>2</sub> (20)	2
	H-40		T <sub>2</sub> (40)	2
	H-60		T <sub>2</sub> (60)	2
	H-0	Ekstrak Sampah Organik dan Minyak Bumi	T <sub>02</sub> (0)	2
	H-20		T <sub>02</sub> (20)	2
	H-40		T <sub>02</sub> (40)	2
	H-60		T <sub>02</sub> (60)	2
<b>Jumlah Total</b>			<b>96</b>	

### 3.3.1 Preparasi Bakteri Campuran

Pengambilan sampel sebagai sumber bakteri campuran dilakukan pada komposisi optimum dalam proses *composting* tanah terkontaminasi minyak bumi dengan sampah organik (sampah kebun dan rumen sapi) dengan perbandingan 50:50 (TS), sampah kebun (SK), rumen sapi (RS), dan tanah terkontaminasi minyak bumi dari pertambangan rakyat Desa Wonocolo, Kabupaten Bojonegoro (T). Sampel kompos untuk mengidentifikasi terbentuknya biosurfaktan dalam proses *composting* diambil pada hari ke 0, 20, 40, dan 60. Pengambilan sampel dilakukan sesuai dengan periode waktu pada faktor rancangan umur *composting*. Sampel kemudian disimpan dalam pendingin (*refrigerator*) untuk menjaga agar tidak terjadi perubahan akibat aktivitas bakteri.

### 3.3.2 Preparasi Media Bakteri

#### 1. Ekstrak sampah padat organik

Pada penelitian ini, sampah padat organik yang digunakan sebagai media bakteri adalah sampah kebun dan rumen sapi. Sampah kebun terdiri dari daun dan ranting yang diperoleh dari Rumah Kompos ITS, Surabaya. Sedangkan rumen sapi berasal Rumah Potong Hewan (RPH) Pegirian, Surabaya. 10 g sampah kebun dan rumen sapi yang sudah dihaluskan direndam menggunakan 40 mL akuades dan *dishaker* selama 2 jam dengan kecepatan 100 rpm, perlakuan ini diulang sebanyak 3 kali kemudian disaring untuk mendapatkan filtrat cair. Filtrat cair kemudian direndam dengan 50 mL larutan NaOH 1% dan 50 mL larutan NaOH 4% selama 3 hari pada suhu 50°C (Ni`matuzahroh *et al.*, 2010). Perendaman dengan larutan NaOH bertujuan untuk menghilangkan kandungan lemak, minyak, dan glukosa karena NaOH mempunyai sifat sebagai pelarut bagi hidrofobik (Kulikowska *et al.*, 2012). Hasil pencucian sampel dengan akuades dan NaOH kemudian diuapkan pada suhu 90°C guna menghilangkan kandungan pelarut sehingga didapatkan ekstrak sampah yang akan digunakan sebagai media biosurfaktan (Sukhdev *et al.*, 2008).

#### 2. Minyak bumi

Pengambilan sampel minyak bumi dilakukan di area pertambangan minyak bumi rakyat Wonocolo di Kabupaten Bojonegoro, Jawa Timur. Sampel diambil pada sumur-sumur bor yang terdapat di area pertambangan. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam wadah berupa jerigen dan disimpan untuk digunakan sebagai media tumbuh bakteri. Minyak bumi kemudian dilarutkan dengan Air Mineral Sintesis. Media Air Mineral Sintetis (AMS) dibuat dengan cara melarutkan bahan  $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$  (3 g),  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0,2 g), NaCl (10 g),  $\text{CaCl}_2$  (0,01 g),  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (0,001 g),  $\text{H}_3\text{BO}_3$  (0,001 g),  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0,001 g),  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (0,001 g),  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (0,005 g), dan  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0,001 g) ke dalam 1000 mL akuades. Larutan tersebut dihomogenkan menggunakan pengaduk magnetik dan pH larutan dinetralkan dengan penambahan NaOH 10% atau HCl 5% dan dimasukkan dalam tabung 500 ml. Tabung yang telah terisi AMS disterilkan yang disebut sebagai larutan makro nutrien. Larutan mikro nutrien dibuat dari stok  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (1 g),

$K_2HPO_4$  (1 g) dalam 50 mL akuades dan  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  (1 g) dalam 50 mL. Kemudian larutan mikro nutrien di sterilkan. Kedua larutan yang sudah dalam keadaan steril dicampurkan dalam kondisi hangat pada lingkungan yang steril (Pruthi dan Cameotra, 1997).

AMS dicampurkan dengan minyak bumi 6% (v/v) ke dalam tabung reaksi 100 mL. Campuran AMS dan minyak bumi ini nantinya digunakan sebagai media kultur bakteri. Penggunaan kadar minyak bumi 6% bertujuan untuk mendekati kondisi eksisting kadar hidrokarbon pada tanah pertambangan minyak bumi di Desa Wonocolo yang berkisar 6,05% (Barakwan, 2016).

### 3. Campuran Ekstrak Sampah Organik dan Minyak Bumi

Sebanyak 90 mL ekstrak sampah organik dicampurkan dengan 6 mL minyak bumi ke dalam erlenmeyer 250 mL.

#### **3.3.3 Pengambilan dan Preparasi Sampel Tanah Terkontaminasi Minyak Bumi**

Sampel tanah terkontaminasi minyak bumi yang digunakan pada penelitian ini berasal dari lokasi pertambangan rakyat di Desa Wonocolo, Kabupaten Bojonegoro, Jawa Timur. Sampel diambil pada kedalaman 0-20 cm dari permukaan tanah (Mizwar dan Trihadiningrum, 2015; Liu *et al.*, 2012) di sekitar sumur tua aktif, jalur pengangkutan, dan lokasi penyulingan minyak bumi. Penentuan kedalaman maksimal tanah sesuai dengan pernyataan Liu *et al.* (2012) bahwa kadar hidrokarbon tertinggi mencapai 402,3 mg/kg ditemukan pada kedalaman 20 cm. Penentuan titik pengambilan sampel tersebut dilakukan secara *purposive sampling* berdasarkan fungsi dari masing-masing lokasi sampling.

Pengambilan sampel tanah dilakukan dengan cara manual menggunakan cangkul dan sekop. Sampel yang diambil adalah lapisan tanah atas atau permukaan (*topsoil*) pada kedalaman 0-30 cm karena apabila pada tanah permukaan mengandung hidrokarbon maka kadar hidrokarbon dalam tanah tersebut tinggi (Sayara *et al.*, 2010). Pada penelitian ini tanah dari masing-masing titik pengambilan sampel tersebut baru dicampur dan diaduk hingga homogen dan menjadi satu sampel baru/komposit setelah analisis ayakan. Pengkompositan



sampel tanah pada penelitian ini bertujuan untuk mengurangi biaya analisis, untuk menggambarkan konsentrasi rata-rata suatu zat atau substansi dalam lapisan tanah, dan memudahkan pada pengaplikasian untuk remediasi lahan terkontaminasi hidrokarbon (Margesin *et al.*, 2005). Peta lokasi pengambilan sampel tanah tercemar *crude oil* di pertambangan minyak bumi rakyat Desa Wonocolo, Kec. Kedewan, Kab. Bojonegoro. Ilustrasi lokasi pengambilan sampel tanah tercemar minyak bumi dapat dilihat pada Gambar 3.2. Tanah dari masing-masing titik pengambilan sampel kemudian dicampur dan diayak dengan saringan 10 *mesh* (2 mm) untuk mendapatkan bahan yang homogen. Untuk menghindari terjadinya kontaminasi hidrokarbon dari bahan lain, sampel tanah dimasukkan ke dalam karung yang telah dilapisi kain (US-EPA, 2007). Sampel tanah kemudian dipindahkan ke dalam wadah plastik HDPE dan disimpan dalam pendingin (*refrigerator*).

### **3.3.4 Isolasi dan Kultur Bakteri Campuran**

Isolasi bakteri campuran dari keempat sumber diambil pada hari ke-0, 20, 40, dan 60 proses *composting* tanah terkontaminasi minyak bumi dengan cara meresuspensi menggunakan NaCl 0,9%. Sampel bakteri campuran diambil sebanyak 5 g dan dilarutkan dengan 45 mL NaCl 0,9 % di dalam erlenmeyer 100 mL. Kemudian dilakukan agitasi menggunakan *shaker* sampai terjadi resuspensi bakteri campuran dalam NaCl sehingga didapatkan bakteri campuran dalam fase cair yang akan dikulturkan di dalam media. Setelah itu dilakukan kultur bakteri campuran pada ketiga media yaitu ekstrak sampah padat organik (TS<sub>0</sub>, SK<sub>0</sub>, RS<sub>0</sub>, dan T<sub>0</sub>), minyak bumi (TS<sub>2</sub>, SK<sub>2</sub>, RS<sub>2</sub>, T<sub>2</sub>), serta campuran ekstrak sampah organik dan minyak bumi (TS<sub>02</sub>, SK<sub>02</sub>, RS<sub>02</sub>, T<sub>02</sub>). Starter bakteri sebanyak 4 mL dikulturkan dalam 96 mL media sehingga didapatk total 100 mL. Bakteri campuran yang sudah dikultur pada masing-masing media kemudian diinkubasi selama 7 hari yang merupakan waktu optimum pembentukan biosurfaktan oleh bakteri hidrokarbonolastik (Pratiwi, 2012).

### 3.3.5 Ekstraksi Biosurfaktan

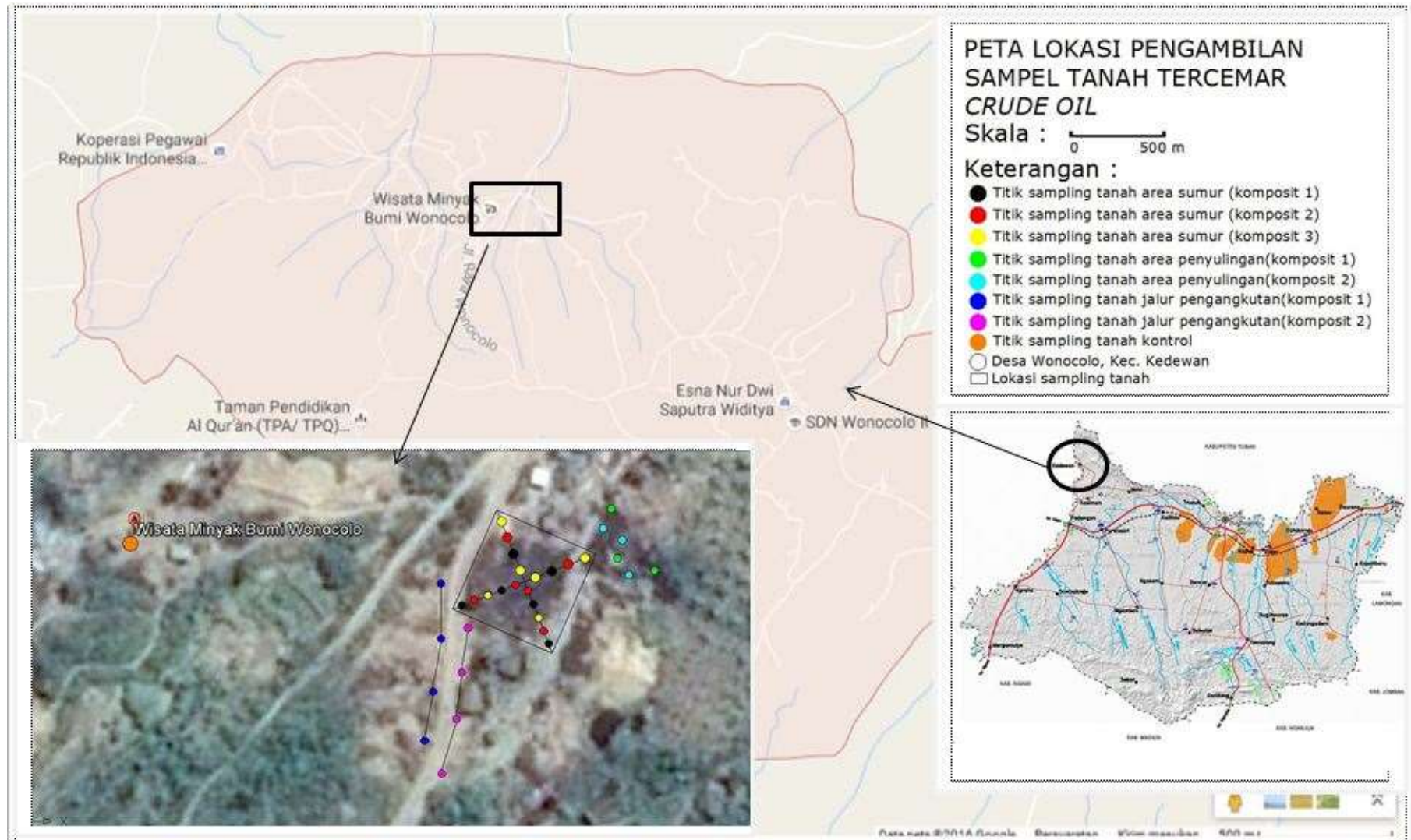
Ekstrak biosurfaktan didapatkan dengan memisahkan supernatan yang mengandung biosurfaktan dan biomasa/bakteri melalui sentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 30 menit (Sharma *et al.*, 2001). Kemudian supernatan yang mengandung biosurfaktan selanjutnya dianalisis karakteristiknya meliputi tegangan permukaan dengan menggunakan *Tensiometer Du-Nouy* (Ni`matizahroh *et al.*, 2015) dan aktivitas emulsifikasi menggunakan metode ekstraksi kerosin (Pruthi dan Cameotra, 1997). Analisis tegangan permukaan dilakukan untuk mengetahui kemampuan biosurfaktan dalam menurunkan tegangan permukaan antara hidrokarbon dengan matriks tanah. Suatu senyawa dapat berperan seperti surfaktan jika mampu menurunkan tegangan permukaan minimal sebesar 10 dyne/cm (Ni`matuzahroh *et al.*, 2012). Sedangkan analisis aktivitas emulsifikasi untuk mengetahui kemampuan biosurfaktan dalam mengemulsi hidrokarbon sehingga ikatannya dengan matriks tanah terlepas.

### 3.4 Penelitian Tahap II

Penelitian tahap II bertujuan untuk menentukan kemampuan biosurfaktan dalam desorpsi hidrokarbon yang kemudian dibandingkan kemampuannya dengan surfaktan sintetik Tween 80. Faktor rancangan dosis tween 80 terdiri atas tujuh level rancangan yaitu 0%, 0,5%, 1%, 1,5%, 2%, 2,5%, dan 3% Penggunaan variasi dosis ini berdasarkan pada dosis optimum pemakaian Tween 80 dalam remediasi lahan yaitu  $\pm 2\%$  (Mizwar dan Trihadiningrum, 2015). Penelitian tahap II dilakukan dengan 2 kali pengulangan (duplo) pada setiap perlakuan sehingga terdapat 14 satuan percobaan yang secara lengkap dapat dilihat pada Tabel 3.2.

Tabel 3.2 Faktor rancangan penelitian tahap II

Dosis Tween 80	Kode Reaktor	Jumlah Reaktor
0%	T <sub>80</sub> (0)	2
0,5%	T <sub>80</sub> (0,5)	2
1%	T <sub>80</sub> (1)	2
1,5%	T <sub>80</sub> (1,5)	2
2%	T <sub>80</sub> (2)	2
2,5%	T <sub>80</sub> (2,5)	2
3%	T <sub>80</sub> (3)	2
<b>Jumlah Total</b>		<b>14</b>



Gambar 3.2 Lokasi pengambilan sampel tanah tercemar minyak bumi di Kab. Bojonegoro

Pada penelitian tahap II, ekstrak biosurfaktan digunakan untuk menentukan kemampuannya dalam mobilisasi hidrokarbon pada tanah terkontaminasi minyak bumi. Teknik yang digunakan adalah *soil washing* dengan metode *rotary agitator*. Penggunaan teknik *soil washing* dengan metode *rotary agitator* dipilih karena cocok dengan jenis tanah tercemar yang memiliki tekstur liat pasir berdebu yang memiliki ikatan kuat antara partikel tanah dengan hidrokarbon.

Sebanyak 5 g sampel tanah terkontaminasi minyak bumi dan 50 mL ekstrak biosurfaktan ditempatkan dalam botol kaca kemudian dilakukan *soil washing* menggunakan *rotary agitator* selama 20 jam dengan kecepatan 200 rpm. Penggunaan 5 g sampel tanah terkontaminasi dan 50 mL ekstrak biosurfaktan berdasarkan pada rasio optimum antara tanah tercemar dengan surfaktan dalam proses *soil washing* yaitu 1:10 (w/v) (Hadrah, 2011). Kemudian dilakukan penyaringan terhadap hasil *soil washing* sehingga didapatkan sampel tanah terkontaminasi setelah agitasi. Analisis kandungan hidrokarbon dilakukan sebelum dan sesudah proses *soil washing* dengan biosurfaktan dan Tween 80.

Sampel tanah sebelum dan sesudah *soil washing* kemudian diekstraksi menggunakan metode *soxhlet* dengan  $\pm 100$  mL N-heksane. Fase N-heksane dievaporasi untuk mendapatkan kadar minyak yang terlarut (Urum *et al.*, 2003). Minyak bumi yang termobilisasi bersama biosurfaktan dan Tween 80 kemudian dilanjutkan pengukurannya dengan metode gravimetri untuk mengetahui kadar hidrokarbon yang terdesorpsi oleh biosurfaktan dan Tween 80 (ATSDR, 1999). Dalam *soil washing* ini dilakukan perbandingan kemampuan desorpsi biosurfaktan dan surfaktan sintetik Tween 80 dengan variasi dosis 0% ; 0,5% ; 1% ; 1,5% ; 2%, 2,5% ; dan 3%. Tween 80 merupakan surfaktan yang umumnya digunakan dalam beberapa penelitian terkait dengan remediasi lahan tercemar.

### **3.5 Analisis Data dan Pembahasan**

Analisis yang dilakukan pada percobaan ini adalah tegangan permukaan, aktivitas emulsifikasi, dan kadar hidrokarbon. Metode yang digunakan untuk berbagai analisis tersebut dapat dilihat selengkapnya pada Tabel 3.3.

Tabel 3.3 Ringkasan metode pengukuran parameter dan analisis sampel

Parameter	Waktu Sampling	Metode Analisis/Alat	Referensi
pH	Sebelum dan sesudah inkubasi bakteri	<i>Universal pH test paper</i>	-
Jumlah populasi bakteri	Sebelum dan sesudah inkubasi bakteri	<i>Total Plate Count/TPC</i>	APHA AWWA dan WEF, 2005
Tegangan permukaan	Setelah ekstraksi biosurfaktan	ASTM D1590-60 (Tensiometer <i>Du-Nouy</i> )	Ni'matuzahroh <i>et al.</i> , (2015)
Aktivitas emulsifikasi	Setelah ekstraksi biosurfaktan	Ekstraksi kerosin	Pruthi dan Cameotra (1997)
Hidrokarbon	Awal dan akhir proses	Gravimetri	ATSDR (1999)

Penjelasan mengenai pengukuran parameter-parameter pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

a. pH

Pengukuran pH dilakukan sebelum dan sesudah inkubasi bakteri campuran menggunakan alat *universal pH test paper*. Penggunaan *universal pH test paper* dalam pengukuran pH dikarenakan untuk menghindari kontaminasi terhadap bakteri. Nilai pH dilakukan merupakan faktor yang penting bagi pertumbuhan bakteri.

b. Jumlah populasi bakteri

Identifikasi bakteri dilakukan dengan metode *Total Plate Count* (TPC). Metode TPC dilakukan untuk mengetahui jumlah populasi bakteri dan bentuk koloni bakteri yang diisolasi. Karakteristik koloni bakteri dapat merupakan salah satu bagian dalam identifikasi bakteri. Bakteri ditumbuhkan pada media agar datar dalam cawan petri dan diamati bentuk koloninya setelah 24 - 72 jam menggunakan *bacteria colony counter* otomatis. Pengukuran total populasi bakteri dilakukan sebelum dan sesudah inkubasi bakteri.

c. Tegangan permukaan

Tegangan permukaan diukur setelah ekstraksi biosurfaktan dengan metode *Tensiometer Du-Nouy*. Penurunan nilai tegangan permukaan (>10 dyne/cm) menunjukkan bahwa bakteri tersebut berpotensi menghasilkan biosurfaktan

(Francy *et al.*, 1991). Nilai pengukuran dinyatakan dalam dyne/cm dan dilaporkan sebagai hasil rata-rata dari 3 ulangan, dengan menggunakan rumus:

$$r = r_0 \times \frac{\theta}{\theta_0}$$

di mana,

r = tegangan permukaan sampel

r<sub>0</sub> = tegangan permukaan akuades pada t° C

θ = tegangan permukaan sampel yang terbaca pada alat

Penurunan nilai tegangan permukaan didapatkan dari hasil pengurangan tegangan permukaan akuades (73,05 dyne/cm) dan nilai tegangan permukaan sampel (r), dengan menggunakan rumus:

$$\Delta TP = 73,05 \text{ dyne/cm} - r$$

d. Aktivitas emulsifikasi

Aktivitas emulsifikasi diukur setelah ekstraksi biosurfaktan dengan metode Pruthi dan Cameotra (1997). Aktivitas emulsifikasi diamati dengan mengukur tinggi emulsi (cm) terhadap tinggi total cairan (cm) dikali 100%.

$$\% \text{ Emulsifikasi} = \frac{\text{tinggi emulsi}}{\text{tinggi total cairan}} \times 100\%$$

e. Hidrokarbon

Kadar hidrokarbon diukur untuk mengetahui kemampuan biosurfaktan yang dihasilkan selama proses *composting* guna desorpsi hidrokarbon pada tanah terkontaminasi minyak bumi. Kadar hidrokarbon pada bahan kompos diukur menggunakan metode ekstraksi soxhlet dan dilanjutkan dengan metode gravimetri. Ekstraksi menggunakan soxhlet dengan pelarut cair merupakan salah satu metode yang paling baik digunakan dalam memisahkan senyawa bioaktif dari alam. Ekstraksi soxhlet dilakukan dengan cara pemanasan dan dilakukan secara berulang atau kontinyu. Metode ini memiliki beberapa kelebihan dibanding yang lain antara lain sampel kontak dengan pelarut yang murni secara berulang, diperoleh hasil ekstraksi relatif banyak dengan jumlah pelarut sedikit, metodenya mudah dan cepat dilakukan, dan tersedianya

peralatan ekstraktor soxhlet di laboratorium (Rais, 2014). Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah n-heksan, yaitu senyawa hidrokarbon alkana dengan rumus kimia  $C_6H_{14}$ . N-heksan dengan titik didih  $69^\circ C$  dalam keadaan standar cairan ini bening, tidak berwarna, dan tidak larut dalam air. Kadar hidrokarbon diukur pada awal dan akhir proses penelitian.

### 3.6 Analisis Data Penelitian dengan *Software* Statistik

Pengaruh masing-masing variabel terhadap parameter penelitian yaitu penurunan tegangan permukaan, aktivitas emulsifikasi, dan efektivitas desorpsi hidrokarbon dianalisis secara statistik dengan metode *analysis of variance* (ANOVA) menggunakan aplikasi *minitab* 16. Sebelum dilakukan analisis pengaruh, data penelitian terlebih dahulu diuji normalitas dan homogenitasnya. Uji normalitas data dilakukan dengan metode *Shapiro-Wilk*. Metode ini sangat disarankan untuk uji normalitas data terutama untuk sampel kecil. Uji statistik *Shapiro-Wilk* menggunakan data dasar yang belum diolah dalam tabel distribusi frekuensi. Data hanya diurutkan untuk kemudian dikonversi ke dalam persamaan:

$$W = \frac{\left[ \sum_{i=1}^n a_i (x_{n-i+1} - x_i) \right]^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (3-1)$$

$a_i$  adalah nilai tabel koefisien *a Shapiro-Wilk* pada data ke- $i$ ,  $x_{n-i+1}$  adalah angka ke  $n-i+1$  pada data,  $x_i$  adalah angka ke- $i$  pada data, dan  $\bar{x}$  adalah nilai rata-rata data. Sementara itu, uji homogenitas data dilakukan dengan metode *Levene test*. Pada uji homogenitas dengan *Levene test*, data tidak harus berdistribusi normal namun harus kontinu. Statistik uji *Levene test* adalah:

$$L = \frac{(n-k) \sum_{i=1}^k n_i (m_i - m_{..})^2}{(k-1) \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (x_{ij} - m_i)^2} \quad (3-2)$$

$k$  adalah banyaknya kelompok data,  $n$  adalah banyaknya data,  $m_i$  adalah median data pada kelompok ke- $I$ , dan  $m$  adalah median untuk keseluruhan data. Apabila data tidak terdistribusi normal atau tidak homogen maka harus ditransformasikan

terlebih dahulu hingga normal dan homogen. Transformasi data umumnya dilakukan dengan metode *Box-Cox*, yang dinyatakan dalam persamaan:

$$y = \frac{x^\lambda - 1}{\lambda} \quad \text{atau} \quad y = \ln(x) \quad \text{untuk} \quad \lambda = 0 \quad (3-3)$$

Nilai  $\lambda$  biasanya dicoba-coba antara -2 sampai dengan 2, hingga hasil transformasi memenuhi syarat distribusi normal dan homogenitas data.

Setelah data terbukti normal dan homogen, maka uji pengaruh dengan ANOVA dapat dilakukan. Berdasarkan jumlah variabel terikat pada masing-masing percobaan, maka analisis pengaruh setiap perlakuan terhadap parameter penelitian pada percobaan ini menggunakan *General Linier Model* ANOVA dan dilakukan dengan uji taraf  $p < 0,05$ . Uji GLM dilakukan untuk mengetahui pengaruh masing-masing variabel bebas (jenis sumber bakteri campuran dan media kultur bakteri) terhadap variabel terikat (penurunan nilai tegangan permukaan, aktivitas emulsifikasi, dan desorpsi hidrokarbon).

### **3.7 Pembahasan, Kesimpulan, dan Saran**

Setelah dilakukan analisis terhadap data hasil penelitian dilakukan pembahasan pada setiap data yang diperoleh. Hasil penelitian ditampilkan dalam bentuk tabel dan grafik yang dibahas dan dianalisis secara jelas dan terperinci. Kesimpulan disusun berdasarkan hasil analisis dan pembahasan yang merupakan jawaban dari tujuan penelitian. Selain itu juga disajikan saran yang merupakan ulasan untuk perbaikan bagi penelitian selanjutnya. Perbaikan-perbaikan untuk melengkapi dan mengevaluasi penelitian ini dapat dilakukan sebagai penelitian lanjutan oleh peneliti lain.



## BAB 4

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Karakterisasi Biosurfaktan

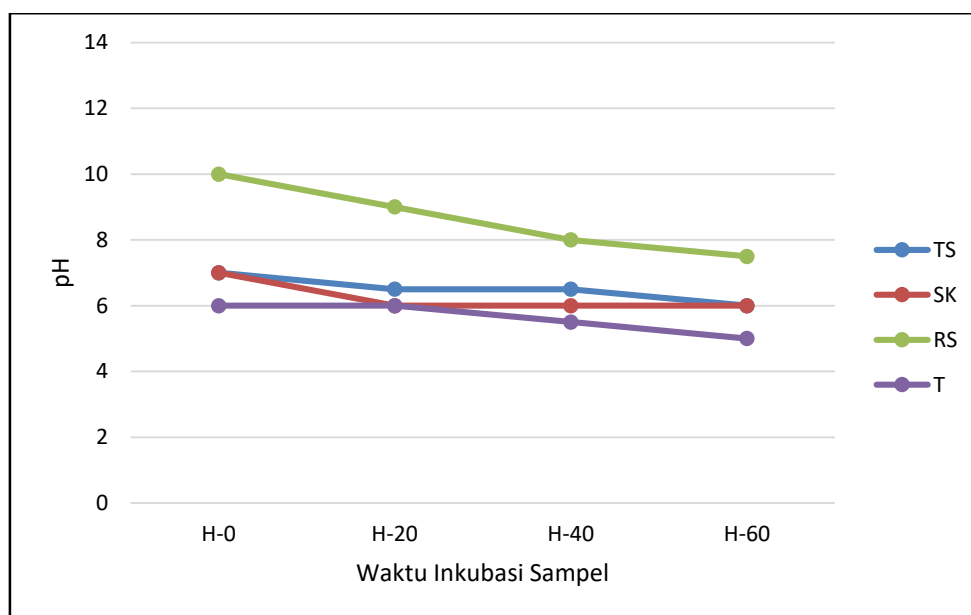
##### 4.1.1 Preparasi dan Ekstraksi Biosurfaktan

Ekstraksi biosurfaktan dilakukan pada beberapa sumber yang berasal dari proses *composting* yaitu rasio optimum 50:50 (w/w) antara tanah terkontaminasi hidrokarbon minyak bumi dengan campuran sampah kebun dan rumen sapi (TS), sampah kebun (SK), rumen sapi (RS), dan tanah terkontaminasi hidrokarbon minyak bumi (T). Ekstraksi biosurfaktan dilakukan saat proses *composting* berlangsung. Terdapat beberapa waktu pengambilan sampel yaitu pada awal pengomposan (hari ke-0), hari ke-20, hari ke-40, dan hari ke-60.

Hasil pengukuran pH awal sampel *composting* yang digunakan sebagai sumber bakteri campuran (Gambar 4.1) menunjukkan bahwa pH tertinggi (10) yaitu pada sampel rumen sapi (RS) dan yang paling rendah (6) pada sampel tanah kontrol (T). Hal tersebut berkaitan dengan kandungan bahan organik yang bervariasi pada masing-masing sampel, dimana sampel RS memiliki kandungan bahan organik yang telah terdekomposisi lanjut atau termineralisasi (matang). Bahan organik yang telah termineralisasi akan melepaskan mineralnya berupa kation-kation basa seperti  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Na}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ , dan  $\text{Mg}^{2+}$  sehingga menyebabkan nilai pH yang tinggi pada sampel rumen sapi (Ahn *et al.*, 2009). Sedangkan pada sampel T, nilai pH yang rendah disebabkan oleh tingginya kadar karbon pada tanah terkontaminasi minyak bumi sehingga banyak terbentuk asam-asam organik.

Nilai pH awal memberikan pengaruh terhadap efisiensi proses inkubasi dan produksi biosurfaktan oleh bakteri (Raza *et al.*, 2007). Pada hari ke-20 sampai hari ke-40, nilai pH pada semua sampel berkisar antara 6-9. Chen *et al.* (2007) melaporkan bahwa pada rentang pH 6-8 merupakan kondisi pH optimum dalam pembentukan biosurfaktan jenis *rhamnolipid* dengan konsentrasi biosurfaktan 1,31-5,31 mg/L. Nilai pH 6-8 juga merupakan pH optimum dalam pertumbuhan bakteri, dimana dalam rentang pH ini bakteri lebih cepat masuk ke dalam fase pertumbuhan dipercepat/eksponensial karena bakteri sudah mengalami tahap pre kultur

sebelumnya sehingga tidak mengalami fase lag/adaptasi. (Ciccyliona dan Nawfa, 2012).

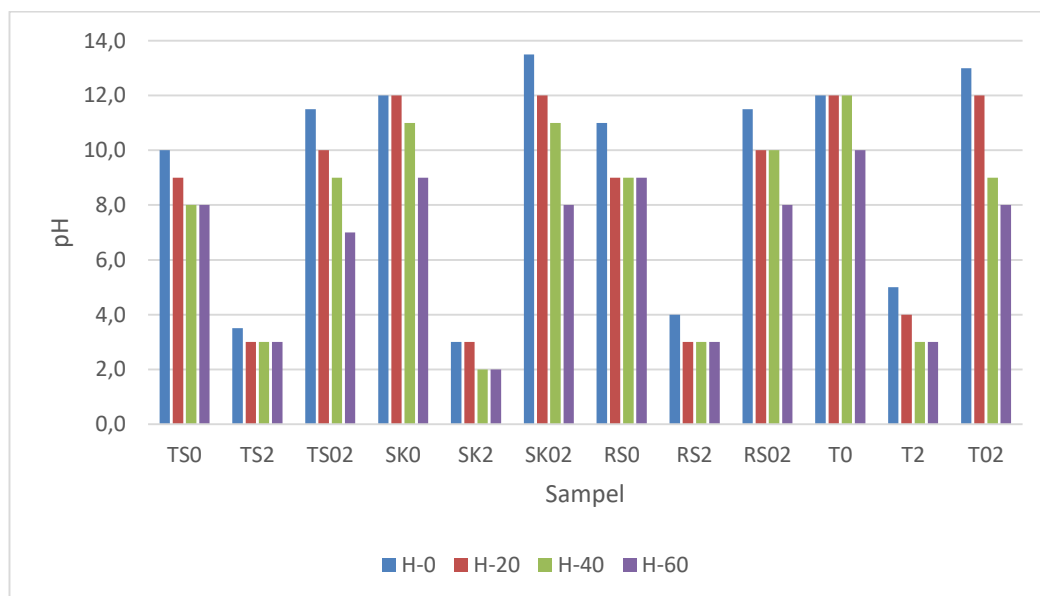


Gambar 4.1 Nilai pH sampel bakteri campuran sebelum inkubasi.

Selanjutnya hasil isolasi bakteri campuran dari masing-masing sumber yaitu rasio optimum tanah per sampah organik 50:50 (TS), sampah kebun (SK), rumen sapi (RS), dan tanah tercemar (T) dibiakkan dalam media yang sudah disiapkan yaitu ekstrak sampah (TS<sub>0</sub>, SK<sub>0</sub>, RS<sub>0</sub>, T<sub>0</sub>), minyak bumi (TS<sub>2</sub>, SK<sub>2</sub>, RS<sub>2</sub>, T<sub>2</sub>), serta campuran ekstrak sampah dan minyak bumi (TS<sub>02</sub>, SK<sub>02</sub>, RS<sub>02</sub>, T<sub>02</sub>) (Gambar 4.2).

Setelah kultur isolat dari keempat sumber, dilakukan pengukuran pH pada setiap sampel. Terjadi penurunan pH pada semua sampel dari waktu inkubasi H-0 sampai H-60 yang disajikan dalam Gambar 4.3. Penurunan paling besar terjadi pada sampel rasio optimum tanah per limbah dengan media ekstrak sampah (TS<sub>0</sub>) yaitu dengan pH akhir pada H-60 sebesar 6,0. Pertumbuhan terbaik bakteri terjadi pada kisaran pH 8,0. Hal ini terjadi karena bakteri pada pH 8,0 sudah bisa beradaptasi dengan lingkungannya. Bakteri pada pH 8,0 juga sudah mulai mensintesis enzim-enzim yang diperlukan untuk memanfaatkan substrat yang tersedia (Ciccyliona dan Nawfa, 2012). Penurunan nilai pH disebabkan karena selama proses *composting* berlangsung aktivitas bakteri asetonik dan terjadi akumulasi asam hasil dekomposisi bahan organik yang menyebabkan terjadinya proses asidifikasi/pengasaman. Bakteri ini akan memecah struktur organik kompleks

menjadi senyawa sederhana berupa asam volatil (Sayara *et al.*, 2011). Data hasil pengukuran pH sampel bakteri campuran sebelum dan sesudah inkubasi terdapat pada Lampiran A.



Gambar 4.2 Nilai pH sampel bakteri campuran setelah inkubasi.

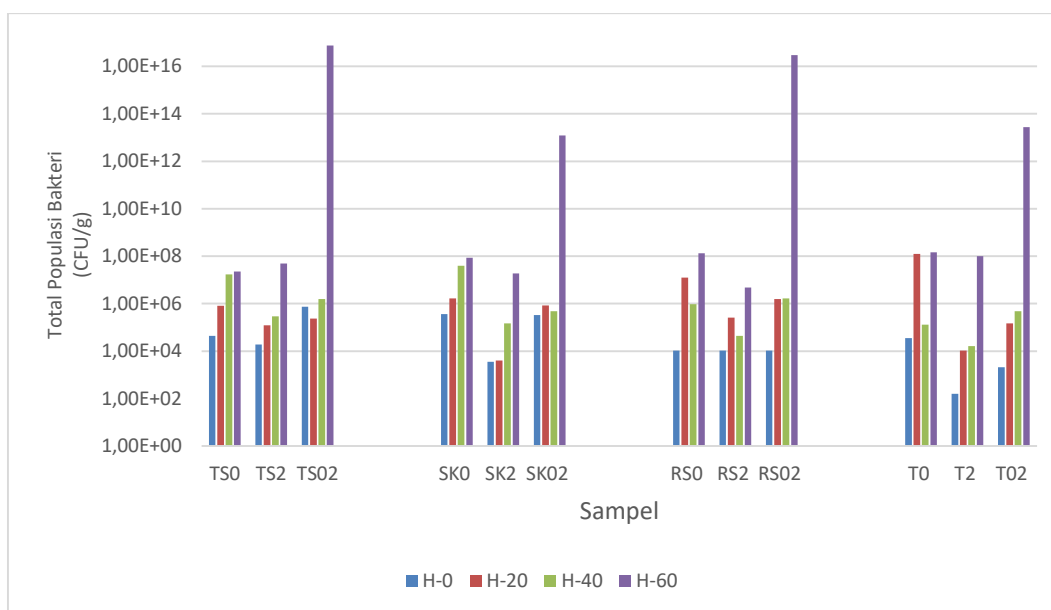
Hasil pemisahan biosurfaktan dengan campurannya diperoleh berupa biomassa/bakteri dari proses sentrifugasi. Proses sentrifugasi mengakibatkan terbentuknya endapan yang mengindikasikan sebagai bakteri dan fraksi cair sebagai supernatan yang mengandung biosurfaktan.

#### 4.1.2 Jumlah Populasi Bakteri

Perhitungan total populasi bakteri dilakukan untuk mengetahui jumlah kisaran bakteri yang hidup dalam setiap sampel pada masing-masing perlakuan. Analisis populasi bakteri menggunakan metode *Total Plate Count/TPC*. Hasil analisis perhitungan jumlah populasi bakteri dapat dilihat pada Gambar 4.4.

Terjadi peningkatan jumlah populasi bakteri dari hari ke-0, hari ke-20, hari ke-40, dan hari ke-60 pada semua sampel. Jumlah populasi bakteri pada semua sampel berkisar antara  $(1,59 \times 10^2 - 7,60 \times 10^{16})$  CFU/g. Jumlah populasi bakteri tertinggi terdapat pada media campuran ekstrak sampah dan minyak bumi hari ke-60 ((TS<sub>02</sub>)<sub>60</sub>, (SK<sub>02</sub>)<sub>60</sub>, (RS<sub>02</sub>)<sub>60</sub>, dan (T<sub>02</sub>)<sub>60</sub>) yaitu sebesar  $(7,60 \times 10^{16}; 1,21 \times 10^{12}; 2,95 \times 10^{16};$  dan  $2,75 \times 10^{13})$  CFU/g. Sedangkan jumlah populasi bakteri terendah terdapat pada media minyak hari ke-0 ((TS<sub>2</sub>)<sub>0</sub>, (SK<sub>2</sub>)<sub>0</sub>, (RS<sub>2</sub>)<sub>0</sub>, dan (T<sub>2</sub>)<sub>0</sub>) yaitu

sebesar ( $1,93 \times 10^4$ ;  $3,55 \times 10^3$ ;  $1,07 \times 10^4$ ; dan  $1,59 \times 10^2$ ) CFU/g. ). Data hasil pengukuran jumlah bakteri campuran terdapat pada Lampiran A.



Gambar 4.3 Jumlah populasi bakteri

Jumlah populasi bakteri yang meningkat mengindikasikan terjadinya aktivitas metabolisme (Hanafi *et al.*, 2014). Peningkatan jumlah populasi bakteri dari semua waktu pengambilan sampel menandakan bahwa ketersediaan bahan organik sebagai nutrisi untuk pertumbuhannya selalu terpenuhi pada semua perlakuan (Sari *et al.*, 2015). Jumlah populasi bakteri tertinggi terdapat pada sampel (TS<sub>02</sub>)<sub>60</sub>, hal ini disebabkan karena mikroorganisme yang berasal dari tanah tercemar dan sampah organik dapat beradaptasi dan berperan aktif dalam media biakan (Fitri *et al.*, 2012). Sari *et al.* (2015) menambahkan bahwa peningkatan jumlah populasi bakteri yang terjadi menunjukkan bahwa bakteri mampu beradaptasi terhadap keberadaan hidrokarbon.

#### 4.1.3 Karakterisasi Biosurfaktan pada Sumber Rasio Optimum Tanah

##### Tercemar dan Sampah Organik 50:50 (TS)

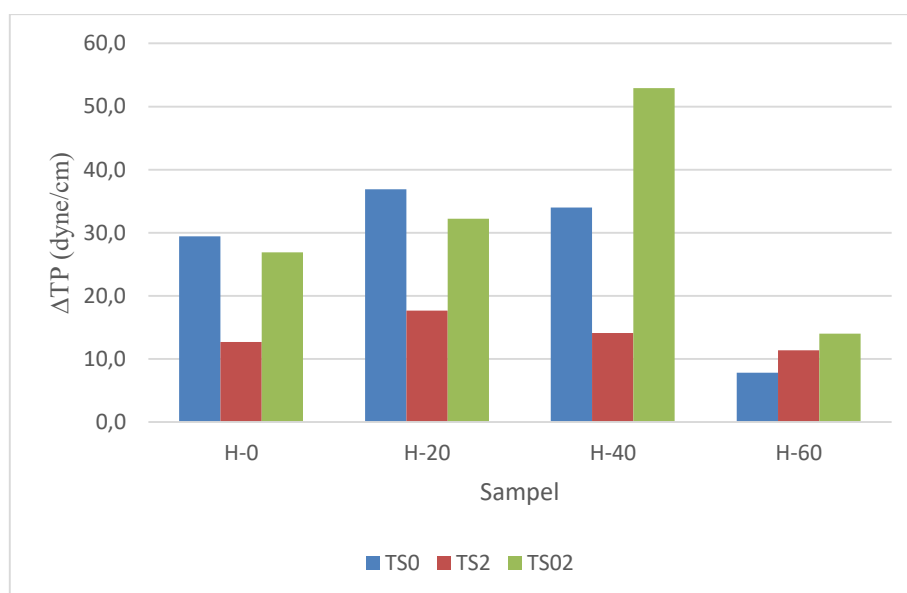
Sumber biosurfaktan dari rasio optimum tanah tercemar dan sampah organik 50:50 (TS) mengalami karakteristik yang bervariasi seiring dengan lamanya waktu *composting*. Pada proses *composting* sampel TS mempunyai karakteristik

biosurfaktan berupa kemampuan penurunan tegangan permukaan dan aktivitas emulsifikasi sebagaimana tersaji dalam grafik pada Gambar 4.4 dan Gambar 4.5.

#### A. Hasil Pengukuran Tegangan Permukaan

Terjadi penurunan tegangan permukaan pada sampel hari ke-0, 20, 40, dan 60 berkisar antara 7,8 dyne/cm – 52,9 dyne/cm (Gambar 4.4). Penurunan nilai tegangan permukaan tertinggi pada media ekstrak sampah dan media minyak bumi terdapat pada hari ke-20 ( $(TS_0)_{20}$  ;  $(TS_2)_{20}$ ) yaitu sebesar 36,9 dyne/cm dan 17,7 dyne/cm. Sedangkan pada media campuran ekstrak sampah dan minyak bumi penurunan tegangan permukaan paling besar terjadi di hari ke-40 ( $(TS_{02})_{40}$ ) yaitu sebesar 52,9 dyne/cm. Data hasil pengukuran penurunan tegangan permukaan biosurfaktan sampel TS selengkapnya terdapat pada Lampiran B.

Tingginya penurunan tegangan permukaan pada hari ke-20 dan hari ke-40 proses *composting* terjadi kenaikan kadar hidrokarbon mencapai 7,97% karena terjadi desorpsi senyawa hidrokarbon yang terikat pada tanah sehingga kemampuan bakteri hidrokarbonoklastik dalam menghasilkan biosurfaktan meningkat (Barakwan, 2017). Hal ini juga didukung oleh jumlah populasi bakteri pada ketiga media hari ke-20 dan hari ke-40 yang cukup tinggi yaitu sebesar  $8,05 \times 10^5$  ;  $1,23 \times 10^5$  ; dan  $1,58 \times 10^6$  CFU/g. Sedangkan pada hari ke-60 nilai tegangan permukaan meningkat dari 39,1 dyne/cm menjadi 65,3 dyne/cm.



Gambar 4.4 Kurva penurunan tegangan permukaan sampel TS

Nilai tegangan permukaan pada hari ke-60 di semua media mengalami peningkatan menjadi 65,3 ; 61,7 ; dan 59,2 dyne/cm. Apabila dikaitkan dengan jumlah populasi bakteri, pada hari ke-60 mengalami peningkatan paling besar yaitu  $2,29 \times 10^7$  ;  $4,95 \times 10^7$  : dan  $7,60 \times 10^{16}$  CFU/g. Hal ini disebabkan karena bakteri pada hari ke-60 kemungkinan mengkonsumsi komponen yang terdapat pada biosurfaktan seperti glikolipid, fosfolipid, lipopeptid, lipoprotein, dan asam lemak sehingga kadar biosurfaktan menjadi berkurang. Selain itu, hal ini juga disebabkan karena sudah tercapainya dosis CMC. Genaro (1990) menyatakan bahwa penambahan surfaktan yang melebihi konsentrasi kritis tertentu, maka surfaktan akan mengalami agregasi dan membentuk struktur misel. Penambahan surfaktan tersebut tidak akan mempengaruhi tegangan permukaan walaupun konsentrasi surfaktan terus ditingkatkan. Konsentrasi kritis terbentuknya misel ini disebut sebagai *critical micelle concentration* (CMC). Tegangan permukaan akan menurun hingga CMC tercapai. Penambahan konsentrasi surfaktan lebih tinggi dari CMC tidak akan menurunkan tegangan permukaan, yang menunjukkan bahwa permukaan cairan telah menjadi jenuh, dimana misel telah terbentuk dan berada dalam kesetimbangan dinamis dengan monomernya. Jadi dapat dikatakan pada hari ke-60 biosurfaktan telah mengalami agregasi dan membentuk struktur misel sehingga tegangan permukaan biosurfaktan relatif stabil dan tidak mengalami penurunan walaupun mengalami peningkatan jumlah populasi bakteri. Hal ini juga dapat dikaitkan dengan penurunan kadar hidrokarbon pada hari ke-60 akibat dari aktivitas bakteri hidrokarbonoklastik yang mulai mendegradasi hidrokarbon menjadi asam-asam organik yang lebih sederhana sehingga produksi biosurfaktan menjadi berkurang (Van Gestel *et al.*, 2003).

Penurunan nilai tegangan permukaan pada media minyak bumi (TS<sub>2</sub>) lebih rendah dibanding pada media ekstrak sampah (TS<sub>0</sub>) dan campuran ekstrak sampah dan minyak bumi (TS<sub>02</sub>). Hal ini dipengaruhi oleh kemampuan bakteri dalam menggunakan karbon dari substrat pertumbuhannya akan menentukan perubahan karbon tersebut dalam bentuk biosurfaktan. Sedangkan penurunan nilai tegangan permukaan tertinggi terdapat pada media campuran ekstrak sampah dan minyak bumi hari ke-40 (TS<sub>02</sub>)<sub>40</sub> yaitu sebesar 52,9 dyne/cm. Hal ini menandakan bahwa bakteri yang ditumbuhkan pada media campuran ekstrak sampah dan minyak bumi

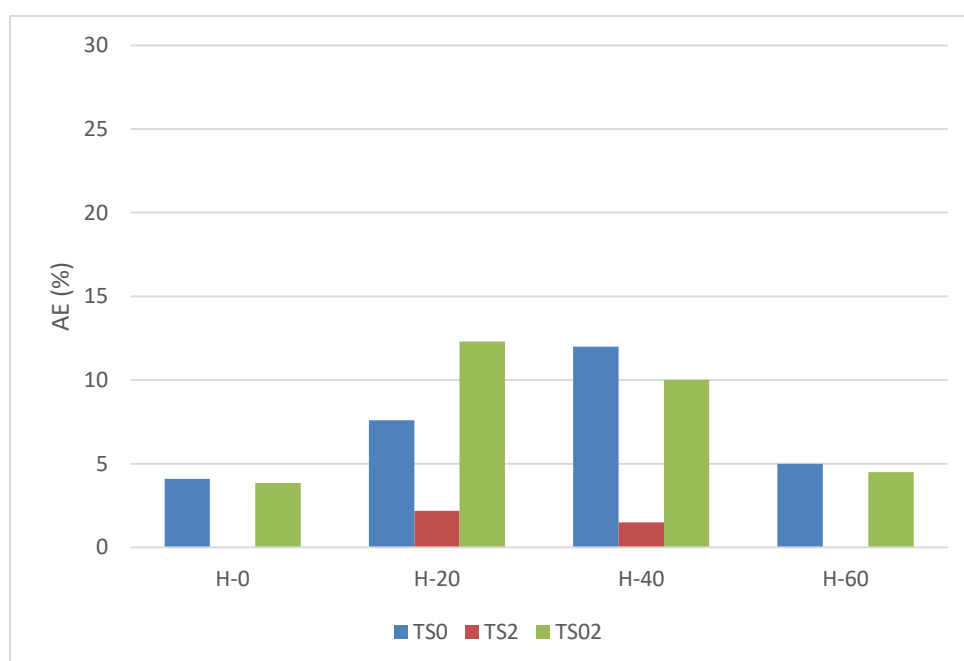
mengalami proses adaptasi yang baik terhadap senyawa-senyawa yang terkandung dalam media. Biosurfaktan yang dihasilkan oleh bakteri memiliki kualitas dan kuantitas yang berbeda pada substrat yang berbeda, sehingga memberikan perbedaan kemampuan dalam menurunkan tegangan permukaan. Media ekstrak sampah yang terdapat pada sampel TS<sub>0</sub> dan TS<sub>02</sub> berperan sebagai nutrisi tambahan sehingga mempercepat aktivitas bakteri hidrokarbonoklastik dalam memproduksi biosurfaktan. Sedangkan pada sampel TS<sub>2</sub>, bakteri membutuhkan adaptasi terlebih dahulu akibat dari adanya kandungan minyak bumi sehingga biosurfaktan yang dihasilkan memiliki kemampuan yang lebih rendah dalam hal penurunan tegangan permukaan.

Sam *et al.* (2017) melaporkan bahwa biosurfaktan jenis glikolipid yang berasal dari isolasi bakteri tanah tercemar hidrokarbon mengalami penurunan tegangan permukaan dari 59,27 dyne/cm menjadi 32,43 dyne/cm dengan waktu inkubasi selama 7 hari. Tabatabae *et al.* (2005) menyatakan penurunan tegangan permukaan merupakan indikasi dihasilkannya biosurfaktan. Semakin turun tegangan permukaan medium, semakin banyak biosurfaktan yang dihasilkan. Rugeri *et al.* (2009) menambahkan bahwa mikroorganisme yang mampu mengurangi tegangan permukaan hingga kurang dari 40 dyne/cm dianggap menjanjikan untuk produksi biosurfaktan. Penurunan tegangan permukaan optimum pada semua media dalam penelitian ini berkisar antara 17,7 dyne/cm – 52,9 dyne/cm, sehingga biosurfaktan dari sumber TS dapat diklasifikasikan sebagai surfaktan dengan berat molekul rendah yang bersifat aktif permukaan.

## **B. Hasil Pengukuran Aktivitas Emulsifikasi**

Berdasarkan hasil pengukuran aktivitas emulsifikasi (AE), pada sampel TS hari ke-0, 20, 40, dan 60 mempunyai karakteristik AE yaitu pada rentang 3,8% - 12,0% (Gambar 4.5). Data hasil pengukuran aktivitas emulsifikasi biosurfaktan sampel TS selengkapnya terdapat pada Lampiran B. Kemampuan emulsifikasi meningkat dari hari ke-0 hingga hari ke-40 dengan nilai kemampuan emulsifikasi tertinggi terdapat pada media ekstrak sampah hari ke-40 (TS<sub>0</sub>)<sub>40</sub> dan pada media campuran minyak bumi dan ekstrak sampah hari ke-20 (TS<sub>02</sub>)<sub>20</sub> yaitu sebesar 12,0% dan 12,3%. Kondisi ini sejalan dengan tingginya penurunan tegangan

permukaan pada hari ke-20 dan hari ke-40. Sedangkan pada media minyak bumi (TS<sub>2</sub>) memiliki kemampuan emulsifikasi paling rendah yaitu sebesar 1,5% - 2,2%. Hal ini disebabkan karena bakteri yang ditumbuhkan dalam substrat pelumas/minyak bumi menghasilkan biosurfaktan yang melekat pada membran sel. Biosurfaktan tidak dieksresikan ke dalam medium sehingga aktivitas emulsifikasi dari supernatannya jauh lebih rendah dibanding supernatan yang ditumbuhkan pada media yang mengandung glukosa. Hal ini didukung oleh hasil penelitian Fatimah (2007) yang menyatakan bahwa biosurfaktan dari jenis bakteri *Pseudomonas sp.* yang ditumbuhkan dalam substrat glukosa dan heksadekan memiliki aktivitas emulsi lebih baik dibanding supernatan dengan substrat pelumas.



Gambar 4.5 Kurva aktivitas emulsifikasi sampel TS

Kemampuan emulsifikasi yang menurun pada hari ke-60 apabila dikaitkan dengan jumlah populasi bakteri yang meningkat pada ketiga media yaitu masing-masing sebesar  $2,29 \times 10^7$  CFU/g (TS<sub>0</sub>) ;  $4,95 \times 10^7$  CFU/g (TS<sub>2</sub>) ; dan  $7,60 \times 10^{16}$  CFU/g (TS<sub>02</sub>). Bakteri yang tumbuh terdiri atas bakteri hidrokarbonoklastik dan bakteri non-hidrokarbonoklastik. Bakteri hidrokarbonoklastik mengkonsumsi komponen hidrokarbon dan membentuknya menjadi biosurfaktan. Sedangkan bakteri non-hidrokarbonoklastik lebih banyak mengkonsumsi komponen-komponen glikolipid, fosfolipid, lipopeptid, lipoprotein, dan asam lemak yang



terkandung dalam biosurfaktan. Sehingga biosurfaktan yang terbentuk dikonsumsi kembali oleh bakteri non-hidrokarbonoklastik sehingga produksi biosurfaktan pada hari ke-60 mengalami penurunan. Oleh karena itu menyebabkan nilai tegangan permukaan meningkat dan kemampuan emulsifikasi mengalami penurunan.

Cooper *et al.* (1986) membagi biosurfaktan menjadi dua kelompok yaitu surfaktan dengan berat molekul rendah (glikolipid, soforolipid, trehalosalipid, asam lemak, dan fosfolipid) yang terdiri atas molekul hidrofobik dan hidrofilik. Kelompok ini bersifat aktif permukaan yang ditandai dengan adanya penurunan tegangan permukaan medium cair. Kelompok kedua adalah polimer dengan berat molekul besar yang dikenal dengan *bioemulsifier*. Dalam medium cair, *bioemulsifer* mempengaruhi pembentukan emulsi serta kestabilannya. Biosurfaktan dari sampel TS memiliki aktivitas emulsifikasi optimum sebesar 12,3%. Apabila dibandingkan dengan teori yang dikemukakan oleh Ni'matuzahroh *et al.* (2010), aktivitas *biobased surfactant* yang bersifat *emulsifier* dengan kisaran nilai AE antara 42,27 – 66,72%, maka kemampuan emulsifikasi optimum biosurfaktan dari sumber rasio optimum tanah tercemar dan sampah organik sebesar 7,0% - 12,3% masih tergolong rendah.

Aktivitas permukaan dan kemampuan emulsifikasi biosurfaktan tidak selalu berhubungan secara linier. Walter *et al.* (2010) menyatakan biosurfaktan jenis soforolipid memiliki kemampuan emulsifikasi yang lemah, walaupun dapat menurunkan tegangan permukaan. Oleh karena itu, uji emulsifikasi hanya digunakan sebagai indikasi awal adanya biosurfaktan yang disintesis oleh bakteri tertentu. Dalam penelitian ini, hasil karakteristik biosurfaktan sebagai penurunan tegangan permukaan yang tinggi sedangkan kemampuan emulsifikasi masih tergolong rendah, maka biosurfaktan dari sampel TS tergolong surfaktan dengan berat molekul rendah.

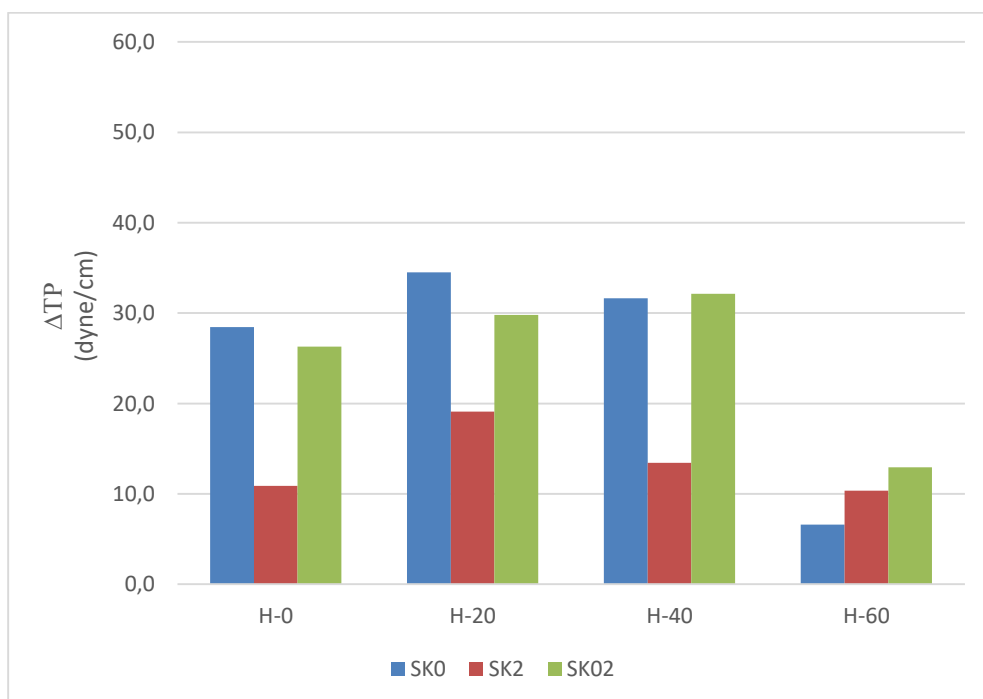
#### **4.1.4 Karakterisasi Biosurfaktan pada Sumber Sampah Kebun (SK)**

Sampel sampah kebun yang digunakan sebagai sumber biosurfaktan diambil dari Rumah Kompos Bratang mengalami karakteristik yang bervariasi seiring dengan lamanya waktu *composting*. Pada proses *composting* sampah kebun mempunyai karakteristik biosurfaktan berupa kemampuan penurunan tegangan

permukaan dan aktivitas emulsifikasi dapat dilihat pada Gambar 4.6 dan Gambar 4.7.

### A. Hasil Pengukuran Tegangan Permukaan

Hasil pengukuran tegangan permukaan pada sumber bakteri sampah kebun (SK) menunjukkan terjadi penurunan tegangan permukaan pada sampel hari ke 0, 20, 40, dan 60 yaitu berkisar antara 6,6 dyne/cm – 34,5 dyne/cm (Gambar 4.6). Penurunan nilai tegangan permukaan paling besar pada sampel sampah kebun terdapat pada media ekstrak sampah hari ke-20 (SK<sub>0</sub>)<sub>20</sub> dan media campuran ekstrak sampah dan minyak bumi hari ke-40 (SK<sub>02</sub>)<sub>40</sub> yaitu sebesar 34,5 dyne/cm dan 32,15 dyne/cm. Sedangkan pada media minyak bumi (SK<sub>2</sub>) mengalami penurunan tegangan permukaan lebih kecil yaitu berkisar antara 10,9 dyne/cm – 19,10 dyne/cm. Kondisi ini sesuai dengan jumlah populasi bakteri pada sampel SK<sub>2</sub> yang berkisar antara  $3,55 \times 10^3$  –  $1,87 \times 10^7$  CFU/g. Nilai ini lebih kecil dibandingkan dengan sampel SK<sub>0</sub> yang memiliki jumlah populasi bakteri sebesar  $3,60 \times 10^5$  –  $8,65 \times 10^7$  CFU/g dan sampel SK<sub>02</sub> sebesar  $3,34 \times 10^5$  –  $1,21 \times 10^{13}$  CFU/g. Data hasil pengukuran penurunan tegangan permukaan biosurfaktan sampel SK selengkapnya terdapat pada Lampiran B.



Gambar 4.6 Kurva penurunan tegangan permukaan sampel SK

Tingginya nilai penurunan tegangan permukaan biosurfaktan sampel SK pada hari ke-0 sampai hari ke-20 menandakan bahwa bakteri dari sampah kebun lebih mampu beradaptasi dan berkembang biak pada media yang mengandung ekstrak sampah sebagai nutrisi tambahan. Kondisi ini juga didukung oleh kandungan hidrokarbon yang meningkat pada hari ke-0 sampai hari ke-40 sehingga mempengaruhi aktivitas bakteri hidrokarbonoklastik dalam memproduksi biosurfaktan. Sedangkan pada media minyak bumi, pertumbuhan bakteri lebih lambat sehingga pada hari ke-60 belum mencapai kondisi optimum bakteri dalam memproduksi biosurfaktan.

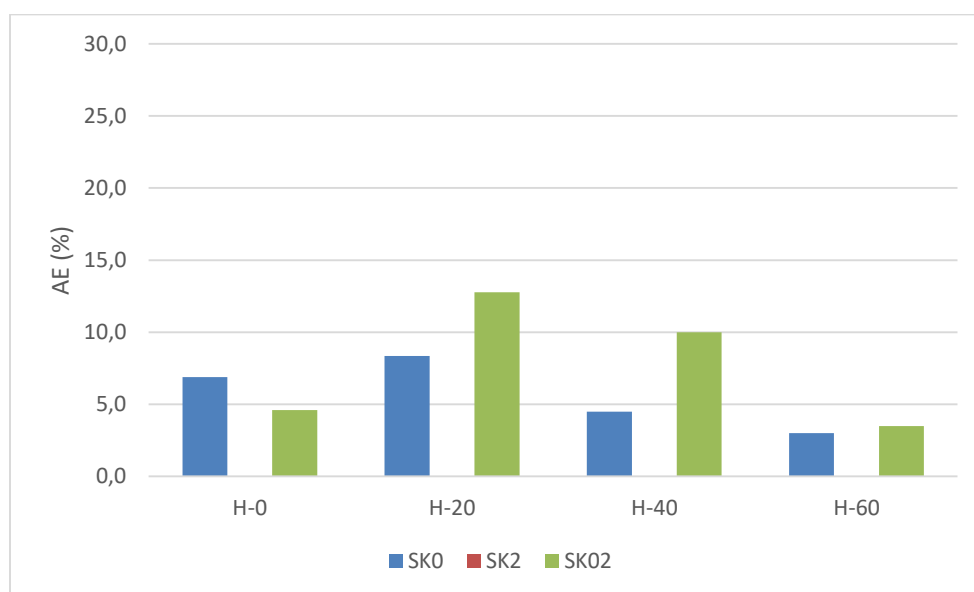
Vanani *et al.* (2014) melaporkan produksi biosurfaktan jenis rhamnolipida yang ditumbuhkan pada substrat minyak mampu menurunkan tegangan permukaan 72 dyne/cm menjadi 32 dyne/cm. Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Savarion *et al.* (2010) menyatakan bahwa sampah kebun yang diisolasi selama 60 hari mampu menurunkan tegangan permukaan sebesar 31,9 dyne/cm. Sedangkan dalam penelitian ini, penurunan tegangan permukaan optimum dari masing-masing media yaitu sebesar 34,5 dyne/cm ; 19,1 dyne/cm ; dan 32,1 dyne/cm (Gambar 4.7), sehingga biosurfaktan dari sampah kebun dapat diklasifikasikan sebagai surfaktan dengan berat molekul rendah yang bersifat aktif permukaan.

## **B. Hasil Pengukuran Aktivitas Emulsifikasi**

Hasil analisis AE yang dihasilkan oleh biosurfaktan sampel sampah kebun berkisar antara 3,0% - 12,8% (Gambar 4.7). Kemampuan emulsifikasi biosurfaktan yang ditumbuhkan pada media ekstrak sampah (SK<sub>0</sub>) serta media campuran ekstrak sampah dan minyak bumi (SK<sub>02</sub>) mengalami peningkatan dari hari ke-0 hingga hari ke-20, setelah itu mengalami penurunan pada hari ke-40 dan hari ke-60. Data hasil pengukuran aktivitas emulsifikasi biosurfaktan sampel SK selengkapnya terdapat pada Lampiran B.

Nilai kemampuan emulsifikasi optimum terdapat pada media campuran minyak bumi dan ekstrak sampah hari ke-20 (SK<sub>02</sub>)<sub>20</sub> yaitu sebesar 12,8%. Kondisi ini sejalan dengan penurunan tegangan permukaan optimum biosurfaktan dari sampel SK yang juga terjadi pada hari ke-20. Sedangkan biosurfaktan sampel SK

yang ditumbuhkan pada media minyak bumi (SK<sub>2</sub>) tidak terdapat aktivitas emulsifikasi antara biosurfaktan dan kerosin (AE = 0,0%). Kondisi ini dipengaruhi oleh nilai pH yang rendah pada sampel SK<sub>2</sub> yaitu berkisar 2,0 – 3,0. Long *et al.* (2017) menyatakan surfaktan dapat menstabilkan emulsi cukup baik di atas pH 7,4. Rasio pengemulsi minyak sekitar 98% diperoleh pada pH 11,0. Sementara aktivitas emulsifikasi akan menurun dan bahkan tidak terdapat sama sekali saat pH turun sampai di bawah 3,0. Sifat sensitif pH ini disebabkan oleh presipitasi pelarutan surfaktan yang diinduksi oleh protonasi ionisasi gugus karboksil dalam strukturnya di bawah kondisi basa atau asam. Bezza dan Chirwa (2015) melaporkan pada penelitiannya bahwa nilai AE yang diproduksi oleh biosurfaktan akan lebih tinggi apabila media tumbuh yang digunakan kaya akan nutrisi seperti gliserol dan glukosa.



Gambar 4.7 Kurva aktivitas emulsifikasi sampel SK

Surfaktan dapat diklasifikasikan sebagai *emulsifier*, *foaming agent*, *wetting agent*, dispersan atau penurun tegangan permukaan. Hal ini tergantung dari sifat pembawa perannya (Myers, 2008). Pada biosurfaktan bersumber dari sampah kebun hari ke-0 sampai hari ke-60 aktivitas emulsifikasinya masih rendah yaitu yang tertinggi hanya mencapai 12,8%. Biosurfaktan dari sampel SK<sub>2</sub> cenderung bersifat aktif permukaan dibandingkan sebagai pengemulsi. Oleh karena itu kemampuan emulsifikasi biosurfaktan dari sumber sampah kebun masih tergolong

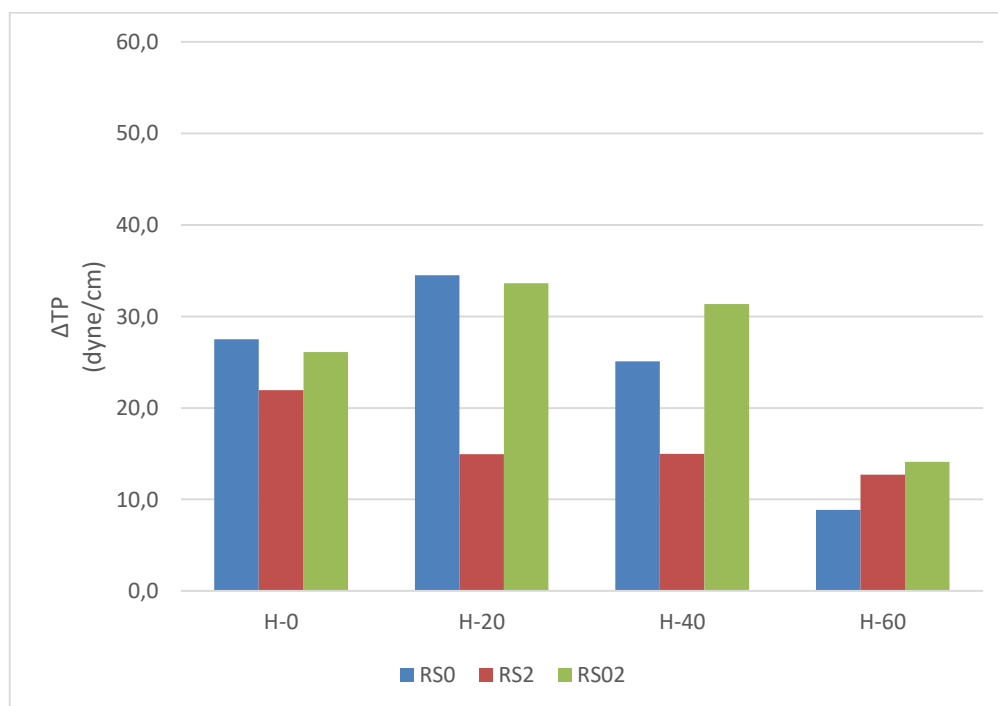
rendah karena kemampuan emulsifikasi *biobased surfactant* yang bagus berkisar antara 42,27– 66,72% (Ni`matuzahroh *et al.*, 2010).

#### 4.1.5 Karakterisasi Biosurfaktan pada Sumber Rumen Sapi (RS)

Rumen sapi yang diperlakukan sebagai kontrol *composting* mengalami karakteristik yang bervariasi seiring dengan lamanya waktu *composting*. Pada proses *composting* rumen sapi mempunyai karakteristik biosurfaktan sebagaimana tersaji pada Gambar 4.8 dan Gambar 4.9.

##### A. Hasil Pengukuran Tegangan Permukaan

Hasil analisis tegangan permukaan menunjukkan terjadi penurunan nilai tegangan permukaan pada sampel hari ke-0, 20, 40, dan 60 yaitu berkisar antara 12,7 dyne/cm – 34,5 dyne/cm (Gambar 4.8). Penurunan nilai tegangan permukaan paling besar pada sampel rumen sapi terdapat pada media ekstrak sampah hari ke-20 (RS<sub>0</sub>)<sub>20</sub> dan media campuran ekstrak sampah dan minyak bumi hari ke-20 (RS<sub>02</sub>)<sub>20</sub> yaitu sebesar 34.5 dyne/cm dan 33,7 dtne/cm. Data hasil pengukuran penurunan tegangan permukaan biosurfaktan sampel RS selengkapnya terdapat pada Lampiran B.



Gambar 4.8 Kurva penurunan tegangan permukaan sampel RS

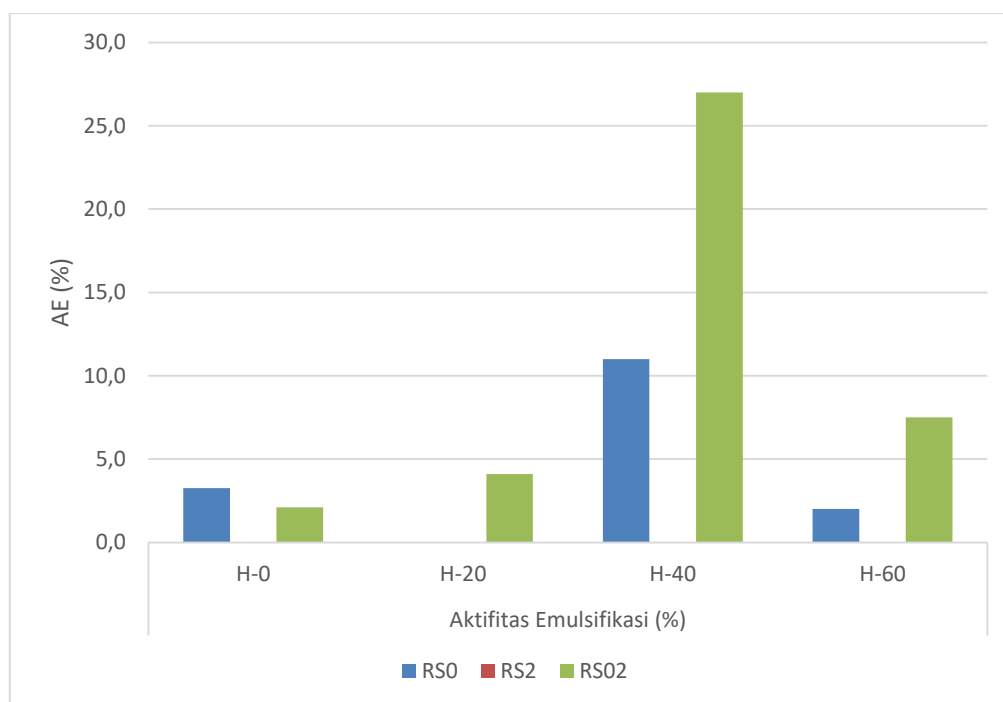
Tingginya nilai penurunan tegangan permukaan pada biosurfaktan sampel RS apabila dikaitkan dengan nilai pH pada hari ke-20 dan hari ke-40 yaitu sebesar 9,0. Sayara *et al.* (2011) menyatakan bahwa aktivitas mikroba berkisar pada pH 6,5 – 9 dimana hal ini terjadi pada awal proses *composting*. Kondisi ini juga didukung oleh kadar hidrokarbon pada hari ke-20 sebesar 7,97% dan jumlah populasi bakteri yang meningkat pada hari ke-20 dan hari ke-40 yaitu sebesar  $1,46 \times 10^5$  -  $1,25 \times 10^7$  CFU/g. Sedangkan pada hari ke-60 terjadi peningkatan nilai tegangan permukaan sama halnya seperti yang terjadi pada kedua sampel sebelumnya yaitu sampel TS dan sampel SK. Kondisi ini disebabkan karena bakteri pada hari ke-60 mengkonsumsi komponen yang terdapat pada biosurfaktan seperti glikolipid, fosfolipid, lipopeptid, lipoprotein, dan asam lemak sehingga produksi biosurfaktan menjadi berkurang.

Perbandingan *bio-based surfactant* dengan penelitian sebelumnya yaitu pada hasil isolasi oleh Chandankere *et al.* (2014) melaporkan bahwa bakteri *bacillus methylotrophicus* dari sampah lignoselulosa yang diisolasi kandungan biosurfaktannya pada hari ke-15 mengalami penurunan tegangan permukaan sebesar 28 dyne/cm. Pratiwi (2012) menyatakan bahwa isolat bakteri LII61 yang merupakan hasil isolasi dari Rumah Potong Hewan (RPH) Pegirian Surabaya mampu memproduksi biosurfaktan yang dapat menurunkan tegangan permukaan sebesar 21,47 dyne/cm. Apabila mengacu pada analisis penurunan tegangan permukaan optimum dari masing-masing media biosurfaktan pada sampel RS didapat sebesar 34,5 dyne/cm ; 22,0 dyne/cm ; dan 33,7 dyne/cm, sehingga biosurfaktan dari rumen sapi dapat diklasifikasikan sebagai surfaktan dengan berat molekul rendah yang bersifat aktif permukaan.

## **B. Hasil Pengukuran Aktivitas Emulsifikasi**

Sampel rumen sapi mempunyai karakteristik AE hasil analisis yaitu pada rentang antara 2,0% - 27,1% (Gambar 4.9). Kemampuan emulsifikasi pada media campuran minyak bumi dan ekstrak sampah (RS<sub>02</sub>) mengalami peningkatan dari hari ke-0 hingga hari ke-40, setelah itu turun pada hari ke-60, dengan nilai AE tertinggi terdapat pada hari ke-40 (RS<sub>02</sub>)<sub>40</sub> yaitu sebesar 27,1%. Sedangkan pada media ekstrak sampah (RS<sub>0</sub>) kemampuan emulsifikasi optimumnya lebih rendah

dibandingkan pada sampel RS<sub>02</sub> yaitu sebesar 11,0%. Bahkan pada media minyak bumi (RS<sub>2</sub>) tidak terdapat aktivitas emulsifikasi. Hal ini seiring dengan nilai penurunan tegangan permukaan pada sampel rumen sapi dengan media campuran minyak bumi dan ekstrak sampah hari ke-40 yang cukup tinggi yaitu mencapai 31,8 dyne/cm. Data hasil pengukuran aktivitas emulsifikasi biosurfaktan sampel RS selengkapnya terdapat pada Lampiran B.



Gambar 4.9 Aktivitas emulsifikasi sampel RS

Nilai aktivitas emulsifikasi biosurfaktan dari sampel rumen sapi merupakan nilai tertinggi dari semua sumber. Namun nilai ini masih tidak stabil, yakni berada pada angka 2,1%, 4,1%, 27,1%, dan 7,5%. Dilihat dari nilai AE biosurfaktan yang bersumber dari rumen sapi, maka kemampuan emulsifikasi biosurfaktan yang dihasilkan masih tergolong rendah.

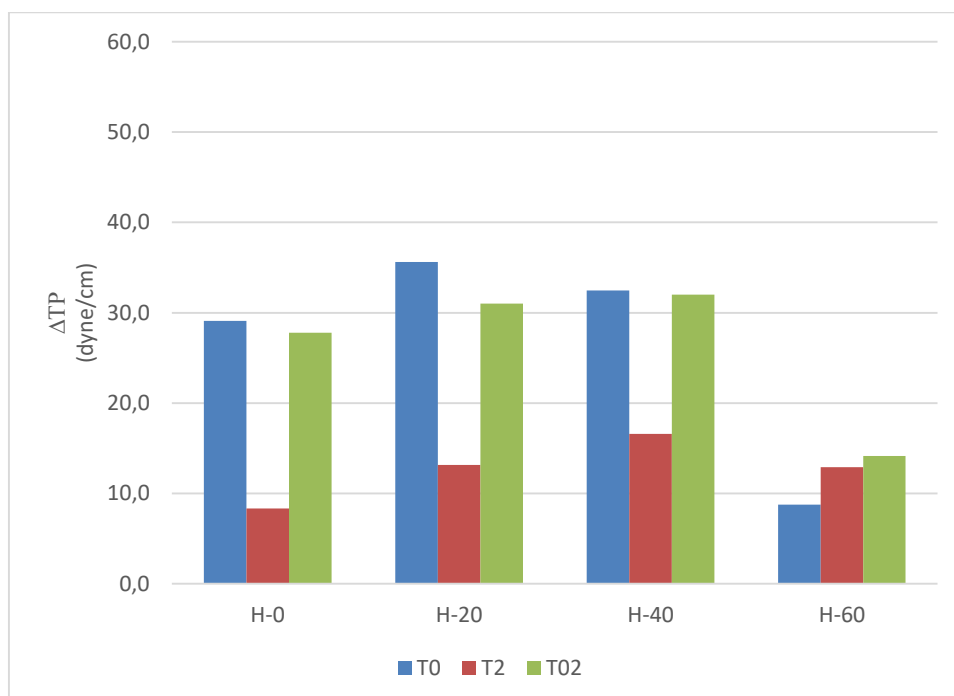
#### 4.1.6 Karakterisasi Biosurfaktan pada Sumber Tanah Tercemar (T)

Sampel tanah terkontaminasi minyak bumi yang digunakan sebagai sumber biosurfaktan diambil dari pertambangan minyak bumi rakyat Desa Wonocolo yang mempunyai jenis tanah liat pasir lanau. Tanah tercemar yang diperlakukan sebagai kontrol *composting* mengalami karakteristik biosurfaktan yang bervariasi seiring dengan lamanya waktu *composting*. Pada proses *composting* variasi sumber biosurfaktan tanah tercemar mempunyai karakteristik biosurfaktan berupa

kemampuan penurunan tegangan permukaan dan aktivitas emulsifikasi sebagai pada Gambar 4.10 dan Gambar 4.11.

### A. Hasil Pengukuran Tegangan Permukaan

Hasil analisis tegangan permukaan pada variasi sumber biosurfaktan tanah tercemar mengalami penurunan tegangan permukaan pada hari ke 0, 20, 40, dan 60 yaitu sebesar 8,4 dyne/cm – 35,6 dyne/cm (Gambar 4.10). Penurunan tegangan permukaan paling tinggi terdapat pada media ekstrak sampah hari ke-20 ( $T_0$ )<sub>20</sub> yaitu sebesar 35,6 dyne/cm. Pada hari ke-40 dan hari ke-60 tidak terjadi peningkatan penurunan tegangan permukaan dimana penurunan nilai tegangan permukaan pada hari ke-40 dan hari ke-60 sebesar 32,45 dyne/cm dan 8,75 dyne/cm. Sedangkan pada media minyak bumi ( $T_2$ ) dan media campuran minyak bumi dan ekstrak sampah ( $T_{02}$ ) mengalami penurunan tegangan permukaan paling tinggi dihari ke-40 yaitu sebesar 16,5 dyne/cm dan 32,0 dyne/cm. Data hasil pengukuran penurunan tegangan permukaan biosurfaktan sampel T selengkapnya terdapat pada Lampiran B.



Gambar 4.10 Kurva penurunan tegangan permukaan sampel T

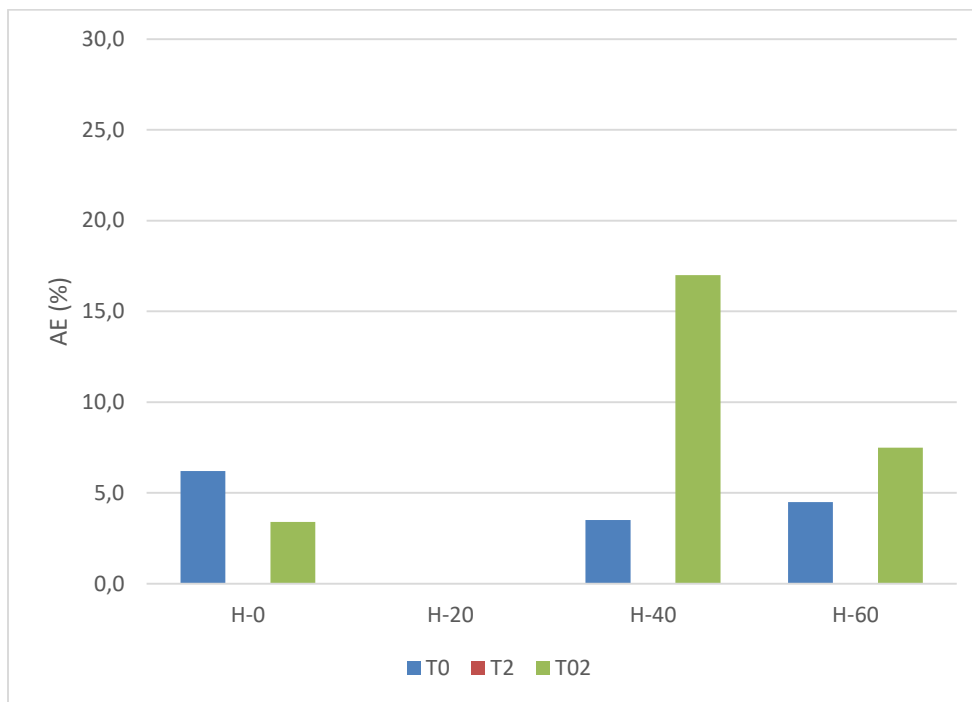
Tingginya nilai penurunan tegangan permukaan pada biosurfaktan dari sumber tanah tercemar dipengaruhi oleh karakteristik tanah tercemar yang memiliki



kadar hidrokarbon yang cukup tinggi yaitu sebesar 6,05% (Barakwan, 2017). Kandungan hidrokarbon yang cukup tinggi ini menyebabkan bakteri hidrokarbonoklastik yang terdapat pada tanah tercemar mengalami stimulasi sehingga produksi biosurfaktan yang dihasilkan juga cukup tinggi. Hal ini juga menandakan bahwa bakteri indigenus mampu beradaptasi dengan adanya kandungan hidrokarbon (Wang *et al.*, 2011). Menurut Desai dan Vyas (2006), bakteri pendegradasi hidrokarbon secara alami terdapat dimana-mana dan relatif lebih tinggi jumlahnya pada tanah tercemar minyak bumi. Gofar *et al.* (2011) menemukan 3 isolat kapang hidrokarbonoklastik indigen di Sumatera Selatan yang tercemar minyak bumi dan terbukti mampu mendegradasi minyak bumi. Kondisi ini menyebabkan tingginya penurunan tegangan permukaan pada sampel T<sub>02</sub> dan T<sub>2</sub> karena bakteri hidrokarbonoklastik yang terdapat dalam tanah tercemar minyak bumi mengalami adaptasi dan pertumbuhan yang lebih cepat dalam media yang mengandung minyak dibandingkan dengan ketiga sumber isolat bakteri lainnya yang digunakan dalam penelitian ini. Berdasarkan kemampuannya dalam menurunkan tegangan permukaan, biosurfaktan dari sumber tanah tercemar minyak bumi dapat diklasifikasikan sebagai surfaktan dengan berat molekul rendah yang bersifat aktif permukaan.

## **B. Hasil Pengukuran Aktivitas Emulsifikasi**

Sampel tanah tercemar memiliki hasil AE yaitu pada rentang 3,4% - 17%. (Gambar 4.12). Kemampuan emulsifikasi optimum pada media campuran minyak bumi dan ekstrak sampah (T<sub>02</sub>) terdapat pada hari ke-40 yaitu sebesar 17%, namun kemudian menurun pada hari ke-60 menjadi 7,5%. Sedangkan pada media ekstrak sampah (T<sub>0</sub>) kemampuan emulsifikasi sangat rendah yaitu hanya berkisar antara 3,5% - 6%, dan pada media minyak bumi (T<sub>2</sub>) tidak terdapat aktivitas emulsifikasi pada semua waktu *composting*. Hal ini menunjukkan ketidak stabilan emulsifikasi yang dihasilkan oleh biosurfaktan dari sumber tanah tercemar, maka dari itu kemampuan emulsifikasi biosurfaktan dari sumber tanah tercemar masih tergolong rendah. Data hasil pengukuran aktivitas emulsifikasi biosurfaktan sampel T selengkapnya terdapat pada Lampiran B.



Gambar 4.11 Kurva aktivitas emulsifikasi sampel T

Secara keseluruhan, karakteristik biosurfaktan yang meliputi penurunan tegangan permukaan ( $\Delta TP$ ) dan aktivitas emulsifikasi (AE) dari setiap sumber dan waktu *composting* menunjukkan nilai yang bervariasi. Hal ini disebabkan oleh karakteristik bakteri campuran dan kondisi media yang digunakan (Sakthipriya *et al.*, 2015). Cameotra dan Makkar (2004) menyatakan bahwa kemampuan dan karakteristik biosurfaktan sangat dipengaruhi oleh sumber karbon yang digunakan sebagai substrat.

Hasil pengukuran  $\Delta TP$  dan AE menunjukkan bahwa nilai terendah dari setiap sumber terdapat pada media minyak bumi. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh jumlah populasi bakteri campuran yang dihasilkan selama proses inkubasi yang juga rendah (Gambar 4.3). Produksi biosurfaktan dipengaruhi oleh jumlah dan karakteristik bakteri yang menghasilkannya. Selain itu, pH biakan yang cukup rendah (2,0 – 6,0) pada media minyak bumi juga menjadi salah satu faktor yang mempengaruhi kemampuan biosurfaktan. Sakthipriya *et al.* (2015) menjelaskan bahwa pada kondisi asam biosurfaktan tidak dapat terlarut sehingga terjadi presipitasi yang dapat menyebabkan perubahan struktur sehingga kemampuannya

dalam menurunkan tegangan permukaan dan aktivitas emulsifikasi menjadi berkurang atau hilang.

Apabila dihubungkan dengan jumlah bakteri, nilai  $\Delta$ TP dan AE biosurfaktan dari setiap sumber yang dihasilkan tidak memiliki korelasi yang linier. Pada kondisi jumlah bakteri yang terus meningkat (Gambar 4.3),  $\Delta$ TP dan AE menunjukkan nilai yang fluktuatif (Gambar 4.4-Gambar 4.11). Penurunan nilai  $\Delta$ TP dan AE biosurfaktan pada setiap sumber rata-rata terjadi pada hari ke-60. Hal ini kemungkinan dipengaruhi oleh jenis bakteri campuran dalam biakan. Biakan bakteri campuran terdiri atas bakteri hidrokarbonoklastik dan lignuselulolitik dari tanah terkontaminasi minyak bumi dan dari sampah organik berupa sampah kebun dan rumen sapi. Akan tetapi, bakteri-bakteri yang terdapat dalam biakan tidak hanya terdiri dari bakteri hidrokarbonoklastik dan lignuselulolitik yang merupakan penghasil biosurfaktan, tetapi juga terdiri atas bakteri non hidrokarbonoklastik.

Keberadaan bakteri non hidrokarbonoklastik kemungkinan menjadi salah satu penyebab terjadinya biodegradasi biosurfaktan. Mengingat pada periode *composting* hari ke-60 dengan jumlah bakteri yang meningkat sedangkan ketersediaan karbon telah berkurang. Hal ini didukung oleh hasil penelitian Barakwan (2017) yang melaporkan bahwa kadar C-Organik selama proses *composting* sampah organik dengan tanah terkontaminasi minyak bumi pada semua sampel kompos yang digunakan sebagai sumber bakteri campuran penghasil biosurfaktan pada hari ke-0 sampai hari ke-60 mengalami penurunan sebesar 60,42 - 92,15%. Dengan nilai C-organik berkisar antara 2,76 – 5,54%. Hanafi *et al.* 2014 menjelaskan, sumber karbon (C) yang terdapat dalam bahan organik akan digunakan bakteri sebagai sumber energi untuk melakukan proses metabolisme. Bakteri akan terus menerus menggunakan karbon sebagai sumber energinya sehingga jumlah karbon yang terkandung dalam bahan yang dikomposkan akan terus berkurang. Jumlah karbon yang terus berkurang tersebut mengakibatkan rasio C/N juga akan semakin kecil. Kondisi ini menyebabkan bakteri non hidrokarbonoklastik mengkonsumsi komponen-komponen yang terkandung dalam biosurfaktan (glikolipida, fosfolipida, lipopeptida, lipoprotein, dan asam lemak) untuk proses metabolismenya. (Mohan *et al.*, 2006).

Untuk mengoptimalkan proses *composting* dan kemampuan biosurfaktan yang dihasilkan, maka dalam aplikasinya dapat dilakukan penambahan bahan kompos berupa sampah organik (sampah kebun dan rumen sapi) pada hari ke-60 proses *composting*. Hal ini untuk untuk mencukupi kandungan karbon (C) yang dibutuhkan oleh bakteri-bakteri yang bersifat non hidrokarbonoklastik agar tidak terjadi biodegradasi biosurfaktan. Selain memiliki kandungan C yang cukup tinggi sehingga dapat berperan sebagai substrat *biodegradable* untuk menstimulasi metabolisme bakteri yang bersifat non hidrokarbonoklastik (Sayara, 2010), dalam sampah kebun juga terdeteksi terdapat kandungan hidrokarbon karena adanya lapisan lilin epikutikular pada permukaan daun sehingga juga dapat menstimulasi bakteri hidrokarbonoklastik untuk memproduksi biosurfaktan (Samanta *et al.*, 2013).

## **4.2 Kemampuan Desorpsi Hidrokarbon**

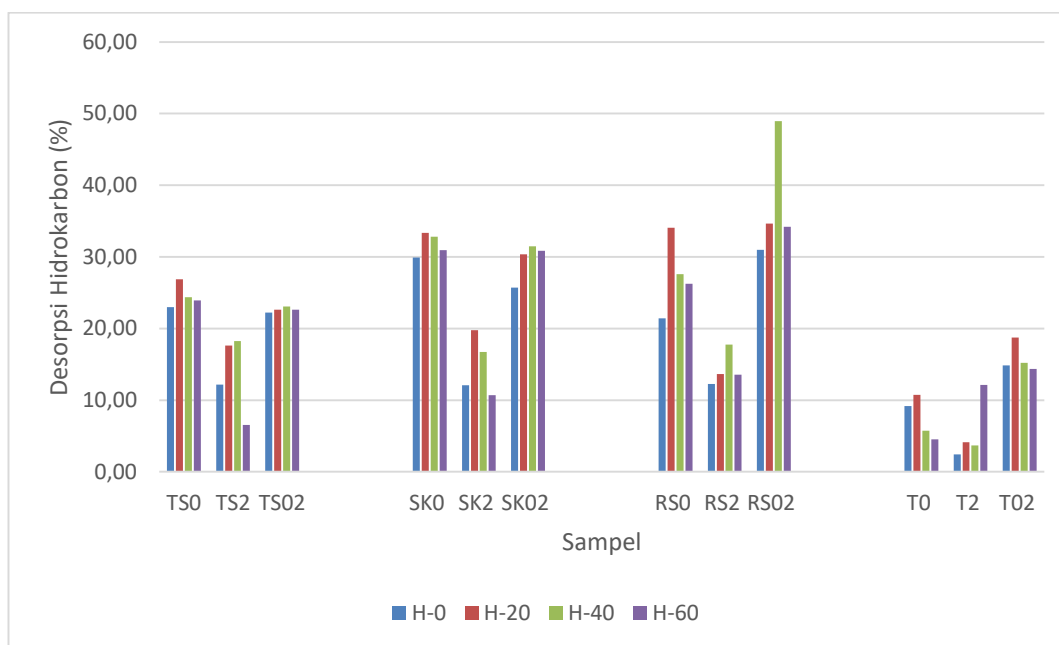
Kemampuan desorpsi hidrokarbon diuji dengan menggunakan teknik *soil washing* tanah tercemar minyak bumi. *Soil washing* terhadap tanah terkontaminasi minyak bumi dilakukan dengan biosurfaktan dan surfaktan nonionik berupa Tween 80 dengan konsentrasi 1,0% sebagai pembanding. Rasio massa tanah tercemar terhadap surfaktan yang digunakan yaitu 1: 10 (m/v) (Hadrah, 2015). Hasil *soil washing* menggunakan Tween 80 ini sebagai pembanding biosurfaktan dalam membantu desorpsi hidrokarbon pada tanah terkontaminasi minyak bumi.

### **4.2.1 Soil Washing oleh Biosurfaktan**

Berdasarkan hasil dari *soil washing* dilakukan analisis kandungan hidrokarbon yang berada pada tanah sebelum dan sesudah agitasi. Dari hasil kadar hidrokarbon tersebut didapatkan persentase desorpsi hidrokarbon dari ikatan partikel tanah. Dalam penelitian ini didapatkan data persentase hidrokarbon yang terdesorpsi dari tanah oleh biosurfaktan sebagaimana pada grafik terdapat pada Gambar 4.12.

Pada sampel rasio optimum sampah organik dan tanah tercemar (TS) kemampuan desorpsi hidrokarbon dari ikatan tanah tercemar sebesar 6,53% - 26,86%. Kemampuan desorpsi hidrokarbon paling besar pada sampel TS terdapat

pada media ekstrak sampah hari ke 20 (TS<sub>0</sub>)<sub>20</sub> dan pada media campuran ekstrak sampah dan minyak bumi hari ke-40 (TS<sub>02</sub>)<sub>40</sub> yaitu sebesar 26,86% dan 23,07%. Sedangkan pada media minyak bumi, kemampuan desorpsi hidrokarbon tertinggi terdapat pada hari ke-40 (TS<sub>2</sub>)<sub>40</sub> yaitu sebesar 18,23%.



Gambar 4.12 Desorpsi hidrokarbon oleh biosurfaktan

Pada sampel sampah kebun (SK) kemampuan desorpsi hidrokarbon dari ikatan tanah tercemar sebesar 10,71% - 33,36%. Kemampuan desorpsi hidrokarbon paling besar pada sampel SK terdapat pada media ekstrak sampah hari ke 20 (SK<sub>0</sub>)<sub>20</sub> dan pada media campuran ekstrak sampah dan minyak bumi hari ke-40 (SK<sub>02</sub>)<sub>40</sub> yaitu sebesar 33,36% dan 31,49%. Sedangkan pada media minyak bumi, kemampuan desorpsi hidrokarbon tertinggi terdapat pada hari ke-20 (TS<sub>2</sub>)<sub>20</sub> yaitu sebesar 19,76%.

Pada sampel rumen sapi (RS) kemampuan desorpsi hidrokarbon dari ikatan tanah tercemar sebesar 12,28% - 48,95%. Kemampuan desorpsi hidrokarbon paling besar pada sampel RS terdapat pada media ekstrak sampah hari ke 20 (RS<sub>0</sub>)<sub>20</sub> dan pada media campuran ekstrak sampah dan minyak bumi hari ke-40 (RS<sub>02</sub>)<sub>40</sub> yaitu sebesar 34,06% dan 48,95%. Sedangkan pada media minyak bumi, kemampuan desorpsi hidrokarbon tertinggi terdapat pada hari ke-40 (TS<sub>2</sub>)<sub>40</sub> yaitu sebesar 17,75%.

Pada sampel tanah tercemar (T) kemampuan desorpsi hidrokarbon dari ikatan tanah tercemar sebesar 2,44% - 18,72%. Kemampuan desorpsi hidrokarbon paling besar pada sampel T terdapat pada media ekstrak sampah hari ke 20 ( $T_0$ )<sub>20</sub> dan pada media campuran ekstrak sampah dan minyak bumi hari ke-20 ( $T_{02}$ )<sub>20</sub> yaitu sebesar 10,74% dan 18,72%. Sedangkan pada media minyak bumi, kemampuan desorpsi hidrokarbon tertinggi terdapat pada hari ke-60 ( $TS_2$ )<sub>60</sub> yaitu sebesar 12,12%.

Biosurfaktan dari keempat sumber rata-rata mengalami peningkatan kemampuan desorpsi hidrokarbon dari hari ke-0 sampai hari ke-40. Hal ini sesuai dengan peran isolat biosurfaktan hari ke-20 dan hari ke-40 yang memiliki kemampuan penurunan tegangan permukaan dan aktivitas emulsifikasi optimum yang bekerja secara bersama sehingga mampu memisahkan hidrokarbon dari ikatan tanah tercemar. Kemampuan desorpsi hidrokarbon tertinggi terdapat pada sampel rumen sapi dengan media campuran ekstrak sampah dan minyak bumi hari ke-40 ( $RS_{02}$ )<sub>40</sub> yaitu sebesar 48,95. Kondisi ini sesuai dengan karakteristik biosurfaktan sampel  $RS_{02}$  dengan nilai penurunan tegangan permukaan optimum sebesar 33,7 dyne/cm dan aktivitas emulsifikasi optimum sebesar 27%. Pada kondisi penurunan tegangan permukaan dan aktivitas emulsifikasi yang optimum, biosurfaktan secara ekstraseluler dapat mengemulsi hidrokarbon sehingga mudah untuk didesorpsi oleh bakteri. Dengan adanya biosurfaktan, substrat yang berupa cairan akan teremulsi dibentuk menjadi misel-misel, dan menyebarkannya ke permukaan sel bakteri. Substrat yang padat dipecah oleh biosurfaktan, sehingga lebih mudah masuk ke dalam sel.

Biosurfaktan meningkatkan ketersediaan substrat tidak larut melalui beberapa mekanisme. Goswami dan Singh (1990) menyatakan terdapat tiga cara transpor hidrokarbon oleh biosurfaktan yaitu (1) interaksi sel dengan hidrokarbon terlarut dalam fase air. Pada kondisi ini rata-rata kelarutan hidrokarbon oleh proses fisika sangat rendah sehingga tidak dapat mendukung pertumbuhan mikroorganisme ; (2) kontak langsung/perlekatan sel dengan permukaan tetesan hidrokarbon yang lebih besar daripada sel mikroba. Pada kasus ini sel mikroba melekat pada permukaan tetesan hidrokarbon yang lebih besar dari pada sel, dan pengambilan substrat dilakukan dengan difusi atau transpor aktif. Ketersediaan substrat untuk penempelan sel merupakan faktor yang membatasi pengambilan substrat. Kontak

langsung antara hidrokarbon dengan sel menunjukkan adanya mekanisme yang penting dalam pengambilan substrat ; (3) interaksi sel dengan tetesan hidrokarbon yang teremulsi atau tersolubilisasi oleh bakteri. Pada kasus ini sel mikroba berinteraksi dengan partikel hidrokarbon yang lebih kecil daripada sel. Cara yang ketiga ini merupakan kebalikan dari kasus yang kedua. Dengan berkurangnya partikel substrat, maka daerah antar permukaan antara hidrokarbon dengan air akan bertambah, sehingga dapat meningkatkan pengambilan substrat oleh biosurfaktan.

Kemampuan desorpsi hidrokarbon oleh biosurfaktan mengalami penurunan pada hari ke-60 yaitu berkisar antara 6,6% - 14,15% dengan kemampuan desorpsi hidrokarbon paling rendah terdapat pada sampel (SK<sub>0</sub>)<sub>60</sub>. Kondisi ini berhubungan dengan karakteristik penurunan tegangan permukaan dan aktivitas emulsifikasi pada hari ke-60 yang cenderung mengalami degradasi. Namun sebaliknya, terjadi kenaikan jumlah populasi bakteri pada semua perlakuan di hari ke-60. Wang *et al.* (2011) menyatakan bahwa peningkatan jumlah populasi bakteri mengindikasikan bakteri mampu bertahan dan beradaptasi dengan media. Bakteri hidrokarbonoklastik juga mendegradasi hidrokarbon sehingga kadarnya menurun walaupun cenderung lambat karena ikatan senyawanya yang kuat dan kompleks juga hidrokarbon berikatan dengan matriks tanah. Oleh karena itu, isolat biosurfaktan mengalami penurunan peran dalam desorpsi hidrokarbon dari ikatan tanah.

Tabel 4.1 Desorpsi hidrokarbon optimum dari masing-masing sumber biosurfaktan

No	Sampel	Desorpsi Hidrokarbon Optimum (%)
1	(TS <sub>0</sub> ) <sub>20</sub>	26,86
2	(SK <sub>0</sub> ) <sub>20</sub>	33,36
3	(RS <sub>02</sub> ) <sub>40</sub>	48,95
4	(T <sub>02</sub> ) <sub>20</sub>	18,76

Berdasarkan hasil analisis, maka didapatkan kemampuan desorpsi hidrokarbon optimum oleh masing-masing sumber biosurfaktan. Kemampuan desorpsi hidrokarbon terbesar oleh biosurfaktan terdapat pada rumen sapi dengan media campuran ekstrak sampah dan minyak bumi hari ke-40 (RS<sub>02</sub>)<sub>40</sub> yaitu sebesar

48,95%. Selanjutnya persentase terbesar kedua yaitu pada sampah kebun dengan media ekstrak sampah hari ke-20 ( $SK_0$ )<sub>20</sub> yaitu sebesar 33,36%. Kemudian diikuti oleh sampel rasio optimum antara sampah dan tanah tercemar dengan media ekstrak sampah hari ke-20 ( $TS_0$ )<sub>20</sub> dan sampel tanah tercemar dengan media campuran ekstrak sampah dan minyak bumi hari ke-20 ( $T_{02}$ )<sub>20</sub> masing-masing sebesar 26,86% dan 18,76%.

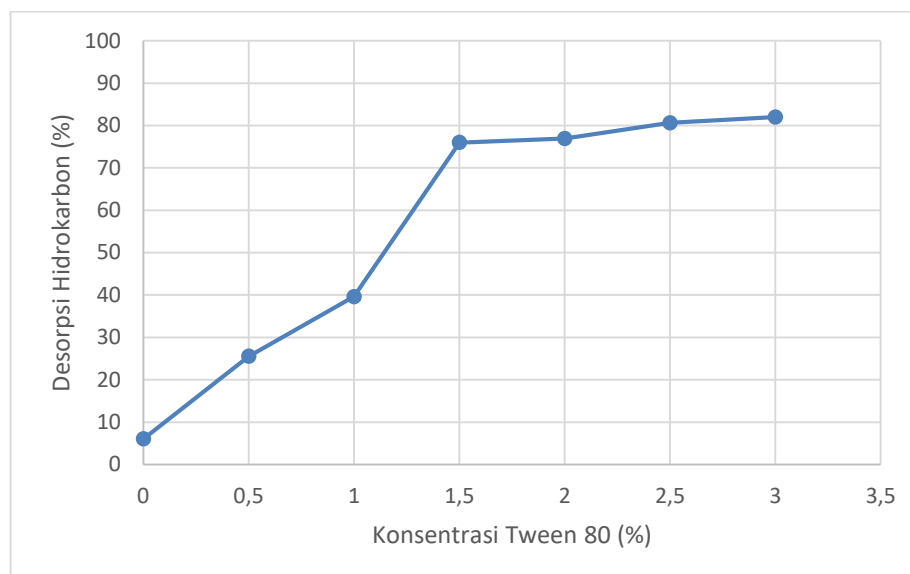
Malavenda *et al.* (2015) melaporkan, biosurfaktan jenis *Joostella sp.* yang diisolasi dari tanah terkontaminasi hidrokarbon minyak bumi memiliki kemampuan penurunan tegangan permukaan (12 dyne/cm), aktivitas emulsifikasi (78,33%), dan kelarutan hidrokarbon (62,67%). Penelitian lainnya yang dilakukan Joy *et al.* (2017) menyatakan biosurfaktan jenis *Achromobacter* memiliki nilai tegangan permukaan sebesar 30,43 – 31,10 dyne/cm, aktivitas emulsifikasi sebesar 65,23% - 69,90%, dan kelarutan hidrokarbon sebesar 46,32%. Apabila dibandingkan dengan hasil penelitian ini, penurunan tegangan permukaan optimum (32,0 – 52,9 dyne/cm), aktivitas emulsifikasi optimum (8,3 – 27,0%), dan kelarutan hidrokarbon (18,76 – 48,95%), maka biosurfaktan yang diisolasi selama proses *composting* tanah terkontaminasi minyak bumi berpotensi diaplikasikan dalam membantu remediasi tanah terkontaminasi hidrokarbon minyak bumi.

#### **4.2.2 Soil Washing oleh Tween 80**

Berdasarkan hasil *soil washing* dilakukan analisis kandungan hidrokarbon yang berada pada tanah sebelum dan sesudah agitasi dengan penambahan Tween 80 dengan konsentrasi 1,0%; 1,5%; 2%; dan 2,5%. Kemampuan desorpsi hidrokarbon meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi Tween 80 yang ditambahkan. *Soil washing* tanpa Tween 80 menghasilkan desorpsi hidrokarbon sebesar 6,02%. Selanjutnya dengan penambahan konsentrasi 0,5% mampu menghasilkan desorpsi hidrokarbon sebesar 25,5%. Peningkatan desorpsi hidrokarbon paling besar terjadi pada penambahan konsentrasi 1,5% yaitu dengan selisih 38,54% sehingga didapatkan pemisahan hidrokarbon sebesar 75,97%. Pada penambahan konsentrasi 2% hingga 3% desorpsi hidrokarbon relatif stabil dan berada pada rentang angka yang dekat yaitu 76,93-81,98%. Mengacu pada hasil penelitian ini maka, penambahan surfaktan sintetik jenis Tween 80 optimum



terhadap tanah tercemar minyak bumi dari pertambangan rakyat Desa Wonocolo sebesar 1,5% disebabkan oleh adanya rentang atau selisih desorpsi hidrokarbon yang paling besar pada konsentrasi tersebut.

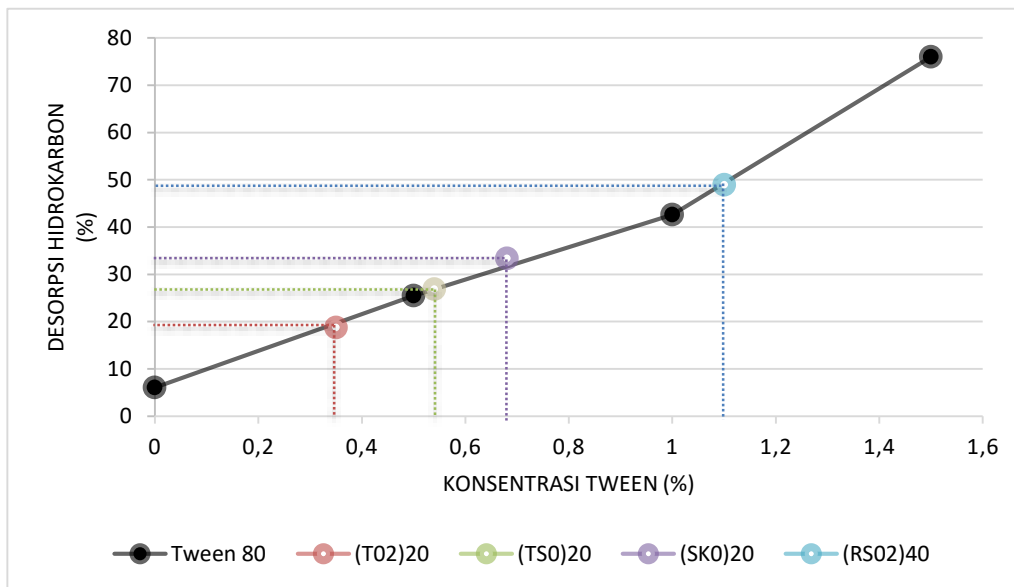


Gambar 4.13 Desorpsi hidrokarbon oleh Tween 80

#### 4.2.3 Komparasi Desorpsi Hidrokarbon

Komparasi antara biosurfaktan dan Tween 80 dilakukan berdasarkan hasil desorpsi hidrokarbon optimum dari masing-masing sumber biosurfaktan setelah proses *soil washing*. Gambar 4.14 menunjukkan desorpsi optimum dari masing-masing sumber biosurfaktan terhadap desorpsi hidrokarbon oleh Tween 80.

Kemampuan desorpsi hidrokarbon optimum oleh biosurfaktan pada sampel  $(SK_0)_{20}$  sebesar 33,36% dan  $(RS_{02})_{40}$  sebesar 48,95%, nilai ini ekuivalen terhadap kemampuan desorpsi Tween 80 dengan konsentrasi 1,0% yaitu sebesar 39,61%. Pada sampel  $(TS_0)_{20}$  dengan kemampuan desorpsi hidrokarbon sebesar 26,86%, nilai ini ekuivalen dengan kemampuan desorpsi Tween 80 dengan konsentrasi 0,5% yaitu sebesar 25,50%. Sedangkan pada sampel  $(T_{02})_{20}$  dengan kemampuan desorpsi hidrokarbon sebesar 18,76%, nilai ini masih dibawah Tween 80 dengan konsentrasi 0,5%. Berdasarkan hasil tersebut, maka kemampuan biosurfaktan pada sampel  $(SK_0)_{20}$ ,  $(RS_{02})_{40}$ , dan  $(TS_0)_{20}$  dalam desorpsi hidrokarbon pada tanah terkontaminasi minyak bumi setara dengan kemampuan Tween 80 dengan konsentrasi 0,5% dan 1,0%.



Gambar 4.14 Grafik plot kemampuan desorpsi hidrokarbon biosurfaktan dengan Tween 80

Sawadogo *et al.* (2016) dalam penelitiannya melaporkan, dengan penambahan Tween 80 konsentrasi 0,4% yang diinkubasi selama 14 hari pada tanah tercemar *oil diesel* mampu meningkatkan kemampuan biodegradasi minyak sebesar 18,83 – 30,25%. Penelitian lainnya yang dilakukan Celik *et al.* (2008) menyatakan, biodegradasi minyak mentah dengan strain *Pseudomonas* mengalami peningkatan sebesar 34% dengan penambahan Tween 80 konsentrasi 1%. Surfaktan dapat meningkatkan kelarutan senyawa tertentu seperti hidrokarbon sehingga memudahkan akses senyawa ini ke sel mikroba. Peningkatan akses mikroba terhadap hidrokarbon ini menyebabkan kenaikan tingkat biodegradasi. Apabila dibandingkan dengan kemampuan desorpsi hidrokarbon, biosurfaktan yang diisolasi selama proses *composting* tanah terkontaminasi minyak bumi memiliki kemampuan layaknya Tween 80. Hal tersebut menunjukkan bahwa biosurfaktan dari isolat bakteri selama proses *composting* berpotensi sebagai *bio-based surfactant* yang dapat berperan dalam membantu desorpsi hidrokarbon dari ikatan tanah.

Biosurfaktan mempunyai sifat dan kemampuan yang mirip seperti surfaktan sintetik Tween 80, akan tetapi biosurfaktan lebih rendah tingkat toksisitasnya, mudah terurai secara biologi, lebih efektif pada suhu, pH dan kadar garam yang berlebihan, dan lebih mudah disintesis. Di samping itu, sifat aktif permukaan yang

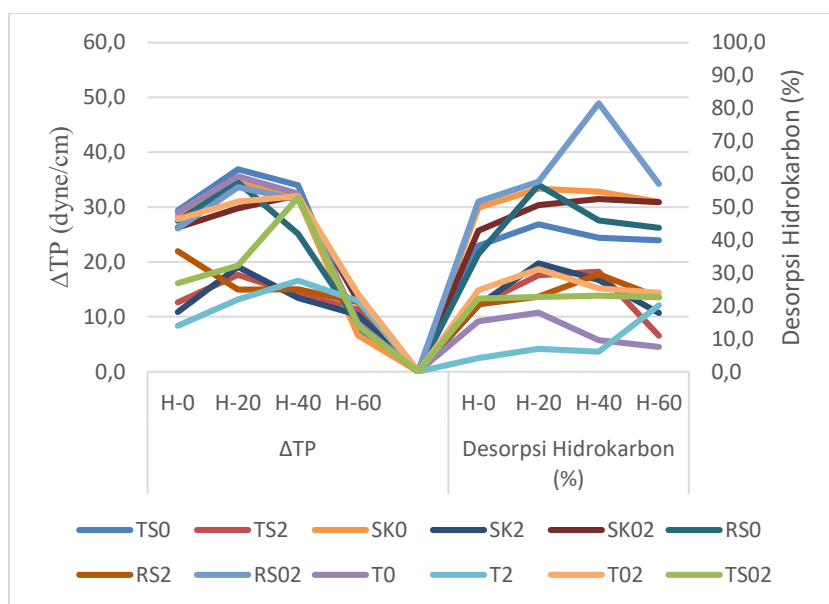
dimilikinya berbeda dengan surfaktan yang disintesis secara kimia. Savarino *et al.* (2007) menjelaskan bahwa surfaktan banyak digunakan sebagai penggunaan sebagai akselator proses biodegradasi hidrokarbon untuk penanggulangan pencemaran minyak. Jenis surfaktan yang banyak digunakan dalam penanggulangan ini adalah surfaktan sintetik tetapi dengan cara tersebut justru menjadi limbah yang sukar terdegradasi sehingga berdampak pada kerusakan lingkungan. Adanya permasalahan inilah yang menyebabkan diperlukan suatu alternatif surfaktan yang mudah terdegradasi sehingga lebih ramah lingkungan yaitu dengan biosurfaktan.

Penggunaan kompos sebagai salah satu sumber *bio based surfactant* pada dasarnya mempunyai nilai ekonomis yang tinggi. Modler *et al.* (2007) menyatakan, kompos yang biasanya digunakan sebagai *fertilizer* mempunyai nilai jual yang tidak lebih dari 15 €/ton dengan biaya proses sekitar 70 €/ton. *Composting* sampah perkotaan dan sampah sayuran membutuhkan biaya sekitar 55 €/ton. Sedangkan harga *surfactant* di pasaran berkisar 1000-200 €/ton. Selain itu, penggunaan sampah sebagai bahan dasar *composting* dapat mengurangi timbulan sampah.

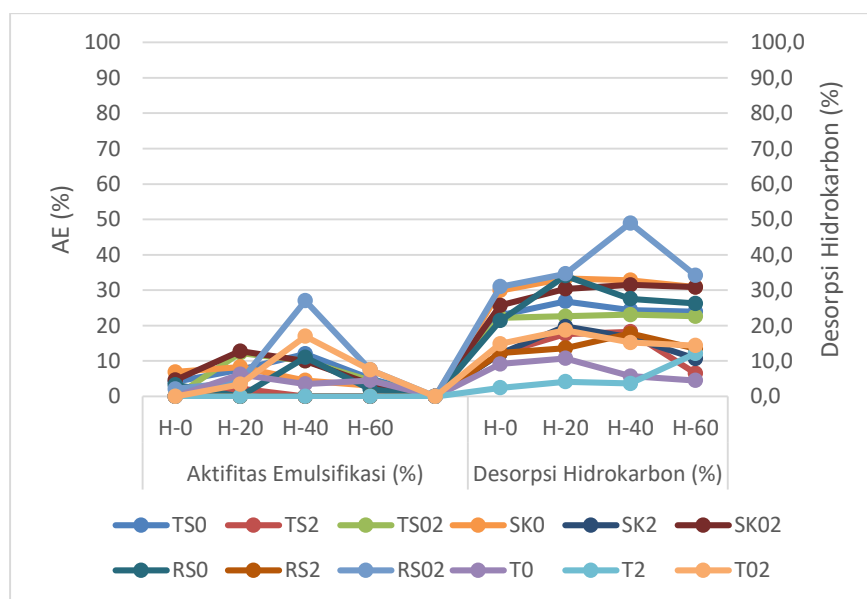
#### **4.3 Korelasi Antara Penurunan Tegangan Permukaan, Aktivitas Emulsifikasi, dan Desorpsi Hidrokarbon**

Biosurfaktan yang dihasilkan pada sampel TS, SK, RS, dan T menunjukkan kemampuan penurunan tegangan permukaan optimum pada ketiga media tumbuh yaitu media ekstrak sampah (TS<sub>0</sub>, SK<sub>0</sub>, RS<sub>0</sub>, T<sub>0</sub>): 36,9 ; 34,5 ; 34,5 ; 35,6 dyne/cm, media minyak bumi (TS<sub>2</sub>, SK<sub>2</sub>, RS<sub>2</sub>, T<sub>2</sub>): 17,7 ; 19,1 ; 22,0 ; 16,6 dyne/cm, serta media campuran ekstrak sampah dan minyak bumi (TS<sub>02</sub>, SK<sub>02</sub>, RS<sub>02</sub>, T<sub>02</sub>): 52,9 ; 32,2 ; 33,7 ; 32,0 dyne/cm. Untuk aktivitas emulsifikasi menghasilkan nilai AE optimum pada media ekstrak sampah sebesar: 12,0% ; 8,3% ; 11,0% ; 6,2% , pada media minyak bumi (TS<sub>2</sub>) sebesar 2,2%, serta pada media campuran ekstrak sampah dan minyak bumi sebesar: 12,3% ; 12,8% ; 27% ; 17%. Sedangkan kemampuan desorpsi hidrokarbon optimum pada media ekstrak sampah sebesar: 26,8% ; 33,6% ; 34,1% ; 10,7%, pada media minyak bumi sebesar: 18,2% ; 19,7% ; 17,7% ; 12,1%, serta pada media campuran ekstrak sampah dan minyak bumi sebesar: 23,1% ; 31,49% ; 48,95% ; 18,72%. Korelasi karakteristik optimum

biosurfaktan dengan kemampuan desorpsi hidrokarbon disajikan pada Gambar 4.19 dan Gambar 4.20.



Gambar 4.18 Korelasi Antara  $\Delta$ TP dan Desorpsi Hidrokarbon



Gambar 4.19 Korelasi Antara Aktivitas Emulsifikasi dan Desorpsi Hidrokarbon

Apabila dilihat dari karakteristik biosurfaktan dan kemampuannya dalam desorpsi hidrokarbon, tidak terdapat korelasi dimana pada kondisi optimum karakteristik biosurfaktan juga menghasilkan desorpsi hidrokarbon yang optimum. Kondisi ini kemungkinan disebabkan karena komposisi bakteri yang berbeda pada masing-masing sumber bakteri campuran sehingga menghasilkan biosurfaktan

dengan jenis yang berbeda. Sing *et al.* (2017) menyatakan bahwa korelasi antara karakteristik biosurfaktan yang meliputi penurunan tegangan permukaan dan aktivitas emulsifikasi dengan desorpsi hidrokarbon tidak selalu berbanding lurus. Kondisi ini dipengaruhi oleh karakteristik biosurfaktan yang berbeda-beda dan sulit diprediksi. Biosurfaktan yang terukur dapat menstimulasi proses desorpsi hidrokarbon tetapi juga dapat menghambat. Biosurfaktan dapat menghambat proses desorpsi apabila terindikasi sebagai *de-emulsifier*. Hal ini kemungkinan terjadi melihat dalam penelitian ini kemampuan emulsifikasi yang terukur masih tergolong rendah.

Jenis bakteri, nilai pH biakan, dan substrat merupakan faktor penting yang mempengaruhi karakteristik biosurfaktan sebagai stimulan dalam proses desorpsi hidrokarbon. Ketiga faktor tersebut berpengaruh terhadap karakteristik biosurfaktan yang dihasilkan. Armendariz *et al.* (2015) melaporkan, terdapat beberapa strain bakteri yang bersifat hidrokarbonoklastik yang dapat menstimulasi proses degradasi hidrokarbon apabila ditumbuhkan pada media yang kaya akan glukosa. Salah satu strain bakteri tersebut adalah *Bacillus subtilis* ATCC 21332 dengan nilai pH biakan 10. Tran *et al.* (2008) dalam penelitiannya menyatakan, spesies *Pseudomonas* yang dibiakkan pada kisaran pH 8-10 dapat mensintesis berbagai metabolit (asam lemak, lipopeptida, peptida dan asam amino) yang dapat digunakan untuk sintesis sel dan produksi biosurfaktan untuk mengoptimalkan proses degradasi hidrokarbon. Dengan menentukan jenis bakteri dan substrat yang digunakan dapat mengontrol pH biakan berada pada rentang optimum pembentukan biosurfaktan (8-10) untuk menghindari potensi terbentuknya biosurfaktan yang bersifat *de-emulsifier*.

Kemampuan desorpsi tertinggi terdapat pada sampel RS dengan media campuran ekstrak sampah dan minyak bumi pada hari ke 40 (RS<sub>02</sub>)<sub>40</sub> yaitu sebesar 48,9%. Apabila dikaitkan dengan penurunan tegangan permukaan pada sampel (RS<sub>02</sub>)<sub>40</sub> yaitu sebesar 31,3 dyne/cm dan aktivitas emulsifikasi sebesar 27,0%, maka didapatkan korelasi yang linier antara penurunan tegangan permukaan dan aktivitas emulsifikasi yang optimum dengan desorpsi hidrokarbon. Kondisi ini disebabkan oleh keberadaan minyak bumi dan kandungan nutrisi yang mencukupi pada media tumbuh yang mampu menstimulasi aktivitas bakteri ligniselulolitik yang terdapat

pada sampel RS, sehingga secara bersamaan dapat meningkatkan desorpsi hidrokarbon. Urum dan Pekdemir (2004) menyatakan bahwa keberadaan nutrisi yang tercukupi dan minyak bumi dalam media tumbuh mampu menstimulasi aktivitas bakteri sehingga secara bersamaan dapat meningkatkan kemampuan biosurfaktan dalam meningkatkan desorpsi hidrokarbon. Van Hemme *et al.* (2003) menambahkan, metabolisme hidrokarbon dibatasi pada antarmuka air per minyak. Biosurfaktan secara ekstraseluler mampu menurunkan tegangan permukaan dan juga bersifat emulsifier sehingga dapat meningkatkan tegangan antar muka air per minyak sehingga meningkatkan transfer massa substrat dan memungkinkan lebih banyak bakteri yang memanfaatkan hidrokarbon untuk keperluan metabolismenya. Hal ini lah yang menyebabkan meningkatnya desorpsi hidrokarbon.

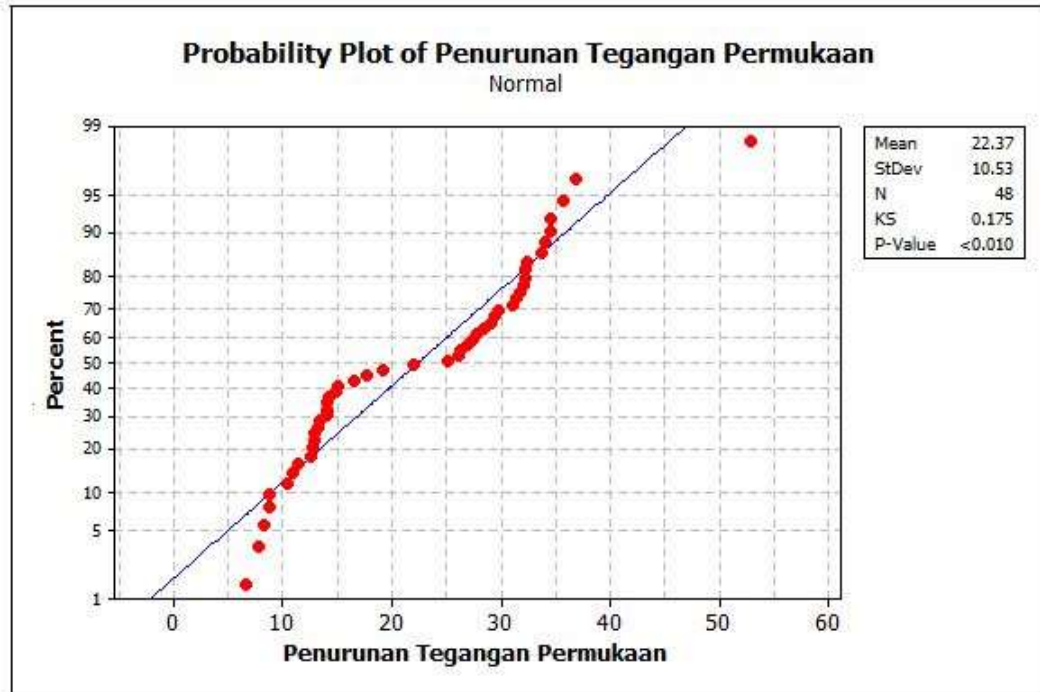
#### **4.4 Uji Statistik ANOVA**

Data hasil penelitian masing-masing parameter dianalisis terlebih dahulu dengan melihat data berdistribusi normal atau tidak dengan menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov*. Kemudian homogenitas varians juga dianalisis dengan uji *Levene test*. Uji distribusi normal dan homogenitas menggunakan Minitab 6. Data penelitian menunjukkan hasil terdistribusi normal dan homogen maka dapat dilanjutkan dengan analisis ANOVA *General Linier Model*. Hasil uji statistik dalam penelitian ini meliputi

##### **A. Pengaruh Sumber Bakteri Campuran Hasil *Composting* terhadap Penurunan Tegangan Permukaan**

Untuk menentukan uji yang digunakan maka dilakukan uji pendahuluan untuk mengetahui apakah data berdistribusi normal dengan menggunakan *Kolmogorov-Smirnov test* (Gambar 4.16). Didapatkan nilai P-Value  $< 0,01$ , nilai ini kurang dari  $\alpha = 0,05$ . Maka bisa disimpulkan bahwa data respon penurunan tegangan permukaan tidak berdistribusi normal. Karena data tidak berdistribusi normal maka untuk melakukan pengujian digunakan pendekatan statistika nonparametrik yaitu dengan uji Kruskal Wallis. Kemudian, untuk melihat homogenitas varians dilakukan *Levene Test* yang menghasilkan nilai P-Value =

0,302, nilai P-Value ini lebih dari  $\alpha = 0,05$ . Maka dapat disimpulkan bahwa varians homogen. Kemudian dilanjutkan ke pengujian.



Gambar 4.15. Hasil uji Kolmogrov-Smirnov terhadap penurunan tegangan permukaan

Hipotesis awal pada uji ANOVA adalah sebagai berikut :

$H_0$  = Tidak ada pengaruh variasi sumber bakteri campuran hasil *composting* terhadap penurunan tegangan permukaan.

$H_1$  = Ada pengaruh variasi sumber bakteri campuran hasil *composting* terhadap penurunan tegangan permukaan.

Berdasarkan *output* minitab didapatkan nilai P-Value = 0,964, nilai P-Value ini lebih dari  $\alpha = 0,05$ . Sehingga keputusannya adalah gagal tolak  $H_0$ , maka kesimpulan dari uji statistik ini yaitu tidak ada pengaruh variasi sumber bakteri campuran hasil *composting* terhadap penurunan tegangan permukaan.

### **B. Pengaruh Media Kultur Bakteri terhadap Penurunan Tegangan Permukaan**

Hipotesis awal pada uji ANOVA adalah sebagai berikut :

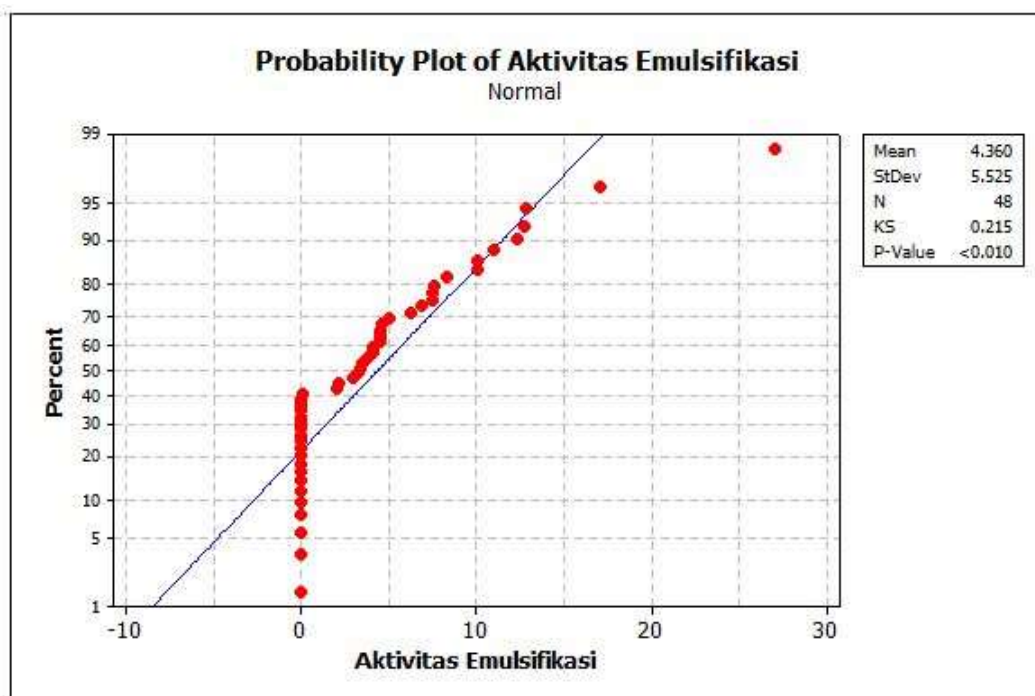
$H_0$  = Tidak ada pengaruh variasi media kultur bakteri terhadap penurunan tegangan permukaan.

$H_1$  = Ada pengaruh variasi media kultur bakteri terhadap penurunan tegangan permukaan.

Berdasarkan *output* minitab didapatkan nilai P-Value = 0,001, nilai P-Value ini kurang dari  $\alpha = 0,05$ . Sehingga keputusannya adalah tolak  $H_0$ , maka kesimpulan dari uji statistik ini yaitu ada pengaruh variasi media kultur bakteri terhadap penurunan tegangan permukaan.

### C. Pengaruh Sumber Bakteri Campuran Hasil *Composting* terhadap Aktivitas Emulsifikasi

Untuk menentukan uji yang digunakan maka dilakukan pengujian apakah data berdistribusi normal dengan kolmogorov-smirnov test (Gambar 4.17).



Gambar 4.16. Hasil uji Kolmogrov-Smirnov terhadap aktivitas emulsifikasi. Didapatkan nilai P-Value < 0,01, nilai P-Value ini kurang dari  $\alpha = 0,05$ . Maka dapat disimpulkan bahwa data respon aktivitas emulsifikasi tidak berdistribusi normal. Karena data tidak berdistribusi normal maka untuk melakukan pengujian ini digunakan pendekatan statistika nonparametrik yaitu dengan uji Kruskal Wallis. Kemudian untuk melihat homogenitas varians dilakukan *Levene Test* menghasilkan



nilai P-Value = 0,958, nilai ini P-Value ini lebih dari  $\alpha = 0,05$ . Maka dapat disimpulkan bahwa varians homogen. Kemudian dilanjutkan ke pengujian.

Hipotesisnya adalah sebagai berikut :

$H_0$  = Tidak ada pengaruh variasi sumber bakteri campuran hasil *composting* terhadap aktivitas emulsifikasi.

$H_1$  = Ada pengaruh variasi sumber bakteri campuran hasil *composting* terhadap aktivitas emulsifikasi.

Didapatkan nilai P-Value = 0,674, nilai ini lebih dari  $\alpha = 0,05$ . Sehingga keputusannya adalah gagal tolak  $H_0$ , maka kesimpulan dari uji statistik ini yaitu tidak ada pengaruh variasi sumber bakteri campuran hasil *composting* terhadap aktivitas emulsifikasi.

#### **D. Pengaruh Media Kultur Bakteri terhadap Penurunan Aktivitas Emulsifikasi**

Hipotesisnya adalah sebagai berikut :

$H_0$  = Tidak ada pengaruh variasi media kultur bakteri terhadap aktivitas emulsifikasi.

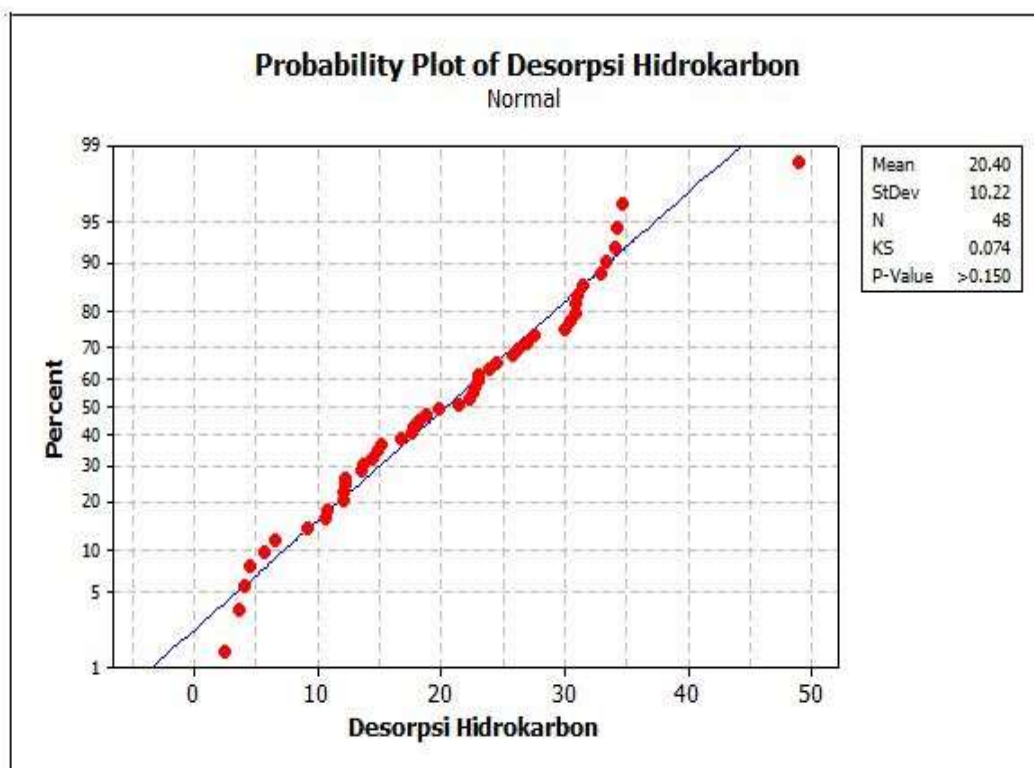
$H_1$  = Ada pengaruh variasi media kultur bakteri terhadap aktivitas emulsifikasi.

Berdasarkan *output* minitab didapatkan nilai P-Value = 0,000, nilai ini P-Value ini kurang dari  $\alpha = 0,05$ . Sehingga keputusannya adalah tolak  $H_0$  Maka kesimpulan dari uji statistik ini yaitu ada pengaruh variasi media kultur bakteri terhadap aktivitas emulsifikasi.

#### **E. Pengaruh Sumber Bakteri Campuran Hasil *Composting* terhadap Desorpsi Hidrokarbon**

Untuk menentukan uji yang digunakan maka dilakukan pengujian apakah data berdistribusi normal dengan kolmogorov-smirnov test (Gambar 4.18). Berdasarkan *output* minitab didapatkan nilai P-Value > 0,150, nilai ini lebih dari  $\alpha = 0,05$ . Maka dapat disimpulkan bahwa data respon desorpsi hidrokarbon berdistribusi normal. Karena data berdistribusi normal maka untuk melakukan pengujian bisa digunakan ANOVA. Kemudian untuk melihat homogenitas varians dilakukan *Levene Test* menghasilkan nilai P-Value = 0,134, nilai ini lebih dari  $\alpha =$

0,05. Maka bisa disimpulkan bahwa varians homogen dan dapat dilanjutkan ke pengujian.



Gambar 4.17. Hasil uji Kolmogrov-Smirnov terhadap desorpsi hidrokarbon

Hipotesisnya adalah sebagai berikut :

$H_0$  = Tidak ada pengaruh variasi bakteri campuran terhadap desorpsi hidrokarbon.

$H_1$  = Ada pengaruh variasi bakteri campuran terhadap desorpsi hidrokarbon.

Didapatkan nilai P-Value dari Sumber adalah 0,000, nilai ini P-Value ini kurang dari  $\alpha = 0,05$ . Sehingga keputusannya adalah tolak  $H_0$ , maka kesimpulan dari uji statistik ini yaitu ada pengaruh variasi sumber bakteri campuran hasil *composting* terhadap desorpsi hidrokarbon.

#### F. Pengaruh Media Kultur Bakteri terhadap Desorpsi Hidrokarbon

Hipotesisnya adalah sebagai berikut :

$H_0$  = Tidak ada pengaruh variasi media kultur bakteri terhadap desorpsi hidrokarbon.

$H_1$  = Ada pengaruh variasi media kultur bakteri terhadap desorpsi hidrokarbon.

Didapatkan nilai P-Value dari Sumber adalah 0,000, nilai ini kurang dari  $\alpha = 0,05$ . Sehingga keputusannya adalah tolak  $H_0$ , maka kesimpulan dari uji statistik ini yaitu ada pengaruh variasi media kultur bakteri hasil *composting* terhadap desorpsi hidrokarbon.

Berdasarkan hasil uji statistik terhadap penurunan tegangan permukaan dan aktivitas emulsifikasi, tidak terdapat pengaruh variasi sumber bakteri campuran hasil *composting* terhadap penurunan tegangan permukaan dan aktivitas emulsifikasi. Hal ini dapat terjadi kemungkinan disebabkan karena bakteri memiliki kemampuan yang relatif sama dalam kemampuan penurunan tegangan permukaan dan membentuk aktivitas emulsifikasi jika ditumbuhkan pada media atau substrat yang sama. Pernyataan ini didukung oleh hasil uji statistik yang menyatakan bahwa terdapat pengaruh variasi media kultur bakteri hasil *composting* terhadap penurunan tegangan permukaan, aktivitas emulsifikasi, dan desorpsi hidrokarbon. Hal ini kemungkinan disebabkan karena terdapat perbedaan dalam komposisi makro nutrien dan mikro nutrien dalam masing-masing media sehingga memiliki kemampuan yang berbeda dalam menstimulasi pertumbuhan bakteri. Namun, pada uji statistik terhadap desorpsi hidrokarbon menunjukkan terdapat pengaruh variasi sumber bakteri campuran hasil *composting* terhadap desorpsi hidrokarbon. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh adanya perbedaan komposisi bakteri campuran yang terdapat dalam masing-masing sumber bakteri, sehingga biosurfaktan yang dihasilkan memiliki kemampuan yang berbeda dalam menstimulasi desorpsi hidrokarbon.

***HALAMAN INI SENGAJA DIKOSONGKAN***

## **BAB 5**

### **KESIMPULAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil analisis maka dapat ditentukan kesimpulan dari penelitian sebagai berikut:

1. Biosurfaktan yang terbentuk selama proses *composting* hari ke-0, 20, 40 hari dan 60 mempunyai karakteristik sebagai berikut.
  - a. Biosurfaktan dari proses *composting* mempunyai potensi sebagai penurun tegangan permukaan dengan nilai  $\Delta TP$  optimum pada sampel TS dengan media campuran ekstrak sampah dan minyak bumi hari ke 40 sebesar 52,9 dyne/cm.
  - b. Kemampuan emulsifikasi biosurfaktan dari proses *composting* masih tergolong rendah dengan nilai AE optimum pada sampel RS dengan media campuran ekstrak sampah dan minyak bumi hari ke 40 sebesar 27,0%.
2. Biosurfaktan dari proses *composting* tanah terkontaminasi minyak bumi mempunyai potensi dalam membantu desorpsi hidrokarbon dengan kemampuan desorpsi optimum hidrokarbon dari semua sumber yaitu TS, SK, RS, dan T masing-masing sebesar 26,86% ; 33,36% ; 48,95% ; 18,76. Nilai ini ekuivalen dengan Tween 80 konsentrasi 0,5% dan 1,0%.

#### **5.2 Saran**

Saran yang dapat diberikan berdasarkan hasil penelitian ini untuk penelitian selanjutnya yaitu:

1. Perlu dilakukan studi pendahuluan tentang karakteristik tanah terkontaminasi secara geologis terkait korelasi tekstur tanah dengan pengikatan kontaminan hidrokarbon, karena *soil washing* sangat dipengaruhi oleh tekstur tanah tercemar.
2. Dapat dilakukan studi lebih lanjut tentang karakteristik dan jenis bakteri penghasil biosurfaktan yang berasal dari proses *composting* sampah organik dan tanah terkontaminasi minyak bumi.

***HALAMAN INI SENGAJA DIKOSONGKAN***

## DAFTAR PUSTAKA

- Achten, C., Cheng, S., Straub, K. L. dan Hofmann, T. (2011). The lack of microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons from coal-rich soils. *Environ Pollut* **159** (2). 623-629.
- Adeniyi, A. A., Owoade, O. J. (2010). Total petroleum hydrocarbon and trace heavy metals in roadside soils along the Lagos Badagry expressway, Nigeria, *Environ Monit Asses* **167** (1-4). 625-630.
- Aguilera, F., Mendez, J., Pasaro, E., dan Laffon, B. (2010). Review on the Effects of Exposure to Spilled Oils on Human Health, *Journal of Applied Toxicology* **30** (4). 291-301.
- Ahn, H. K., Sauer, TL. Richard., and Glanville, T. D (2009). Determination of Thermal Properties of Composting Bulkinh Materials. *Bioresource Technology* **100** (1). 3974-3981.
- Ali, M. (2012). *Tinjauan Proses Bioremediasi melalui Pengujian Tanah Tercemar Minyak*. Surabaya: UPN Press.
- Almansoory, A. F., Hasan, H. A., Idris, M, Abdullah, S. R. S., dan Anuar, N. (2015). Potential application of a biosurfactant in phytoremediation technology for treatment of gasoline-contaminated soil. *Ecology Engineering* **84** (4). 113–120.
- Amid., Salim, R. J., Adenan, M. (2010). The Factors Affecting the Extraction Conditions for Newroprotective Activity of Centella asiatica evaluated by Metal Chelating Activity Assay. *Journal Application Science* **10** (1). 837-842.
- Amir, S., Hafidi, M., Merlina, G., Hamdi, H. dan Revel, J. C. (2005), Fate of polycyclic aromatic hydrocarbons during composting of lagooning sewage sludge. *Chemosphere* **58** (4). 449-458.
- Antizar-Ladislao, B., Lopez-Real, J., Beck, A. J. (2005). In-vessel composting–bioremediation of aged coal tar soil: effect of temperature and soil/green waste amendment ratio. *Environment International* **31** (2). 173-178.
- Armendariz, B. P., Gutierrez, A. M., Salgado, T. J., Hernandez, A. T., dan Lopez, A. S. (2015). Emulsification of Hydrocarbons Using Biosurfactants Producing Strains Isolated from Contamination Soil in Pubela, Mexico. *Intech Journal* **2** (1). 26-45.
- Atagana, H. I., Haynes, R. J., Wallis, F. M. (2003). Co-composting of Soil Heavily Contaminated with Cattle Manure and Mixed Vegetable Waste. *Soil and Sediment Contamination* **12** (6), 889-899.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). (1999). *Toxicological Profile for Cadmium*. US Department of Human and Health Services

- Baldan, E., Basaglia, M., Fontana, F., Shapleigh, J. P., dan Casella, S. (2015). Development, Assesment, and Evaluation of A Biopile for Hydrocarbons Soil Remediation. *International Biodeterioration and Biodegradation* **98** (1). 66-72.
- Bamforth, S. M dan Singleton, I. (2005). Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: current knowledge and future directions. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* **80** (7). 723-736.
- Banat, I. M., Franzeti, A., Gandolfi, I., Bestetti, G., Martinotti, M. G., Fracchia, L., Smyth, T. J., and Marchant, R. (2010). Microbial Biosurfactants Production, Application and Future Potential. *Applied Microbiology and Biotechnology* **87** (2). 427-444.
- Baltrenas P., Baltrenaile E., Sereviciene V., dan Pereira P. (2011). Atmospheric BTEX Concentrations in the Vicinity of the Crude Oil Reinery of the Baltic Region, *Environmental Monitoring and Assessment, Journal* **182** (1-4). 115-127.
- Barakwan, R. A. (2017). Penyisihan Hidrokarbon Pada Tanah Tercemar *Crude Oil* Di Pertambangan Minyak Bumi Rakyat Wonocolo, Bojonegoro Dengan Metode *Co-Composting* Aerobik. *Tugas Akhir. Departemen Teknik Lingkungan ITS.*
- Barathi, S., Vasudevan, N. (2001). Utilization of petroleum hydrocarbons by *Pseudomonas fluorescens* isolated from a petroleum-contaminated soil, *Environment International* **26** (5-6). 413–416.
- Bouchez-Naitali, M., Rakatozafy, H., Marchals, R., Leveau, J. V., dan Vandecasteele, J. P. (1999). Diversity of bacterial strains degrading hexadecane in relation to the mode of substrate uptake, *Journal Appl Microbiology* **86** (3).421–428.
- Carmen, M. M., Daymi, C., Fernandez, N. G. (2009). Effect of Oil Reinery Sludges on the Growthand Antioxidant System, *Journal of Hazardous Materials* **171** (1-3). 879-885.
- Celik, G.Y., Aslim, B., Beyatli, Y. (2008) Enhanced Crude Oil Biodegradation and Rhamnolipid Production by *Pseudomonas stutzeri* Strain G11 in the Presence of Tween-80 and Triton X-100. *Journal of Environmental Biology* **29** (1). 867-870.
- Cerniglia, C. E. (1992). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons, *Biodegradation* **3** (2). 351-368.
- Chen, S.Y., Wei, H.Y., dan Chang, J. S. (2007). Repeated pH-stat fed-batch fermentation for rhamnolipid production with indigenous *Pseudomonas aeruginosa* S2. *Applied Microbiology Biotechnology* **76** (1). 67–74.
- Christofi, N., Ivshina, I. B. (2002). A review: Microbial surfactants and their use in field studies of soil remediation. *Applicitaion Microbiology* **93** (6). 915–29.
- Chijioko-Osuji, C. C., Ibegbulam-Njoku, P. N., dan Belford, E. J. D. (2014). Biodegradation of Crude Oil Polluted Soil by Co-Composting with



- Agricultural Wastes and Inorganic Fertilizer. *Journal of Natural Sciences Research* **4** (6). 28-39.
- Claesson, P.M., E.Blomberg, dan E.E. Poptoshev. (2001). *Surface Force and Emulsion Stability. In: Encyclopedia Handbook of Emulsion Technology.* , New York :Marcel Dekker.
- Clarence, G .G., dan Luis, F. D. (1987). Comporting and the limiting factor principle. *BioCycle* **28** (4). 22-25.
- Ciccyliona, D.Y dan Nawfa, R. (2012). Pengaruh pH Terhadap Produksi Biosurfaktan oleh Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Sains dan Seni Pomits* **1** (1). 21-27.
- Cookson, J. (1995). *Bioremediation Engineering: Design and Application*. New York: Mc. Graw-Hill.
- Cowan, M. K., dan Talaro, K. P. (2006). *Microbiology A Systems Approach*. New York: McGraw-Hill Companies.
- Culbertson, J.B., Valiela, I, Pickart, M., Peacock, E.E., dan Reddy, C.M. (2008). Long-term Consequences of Residual Petroleum on Salt Marsh Grass, *Journal of Applied Ecology* **45** (4). 1284-1292.
- Desai, J. D., dan Banat I. M. (1997). Microbial Production of Surfactants and Their Commercial Potential. *Microbiol And Molecular Biol.* **5** (2). 47-64.
- Desai, A., Vyas, P. (2006). *Applied Microbiology: Petroleum and hydrocarbon microbiology*. Dept. of Microbiology, M.S. Univ. of Baroda, Vadodara.
- Duvnjak. Z., Cooper, D. G., Kosaric, N. (1983). Effect on N sources on Surfactant Production by *Arthrobacter Parafineus* ATCC 19558 In : *Microbial Enhanced Oil Recovery*. Ed.
- Eweis, E., Chans, Schoeder. (1998). *Bioremediation Principle*. Boston: Mc. Graw-hill.
- Farn, R. J. (2006). *Chemistry and Technology of Surfactants*. Blackwell Publishing.
- Fatimah. (2007). Uji Produksi Biosurfaktan ooleh *Pseudomonas sp.* pada Substrat yang Berbeda. *Berk. Penel. Hayati* **12** (1). 181-285.
- Fitri, S. N. A., Jayanti, C. S., dan Budianta, D. (2012). Dinamika Mikrobial dari berbagai Bahan Organik yang Didekomposisi menjadi Kompos. *Jurnal Agrikultur* **7** (2). 208-217.
- Gaudy, A. F. dan Gaudy, E. T. (1980). *Microbiology for Environmental Scientists and Engineers*. New York: McGraw-Hill Book Company.
- Gofar, N. 2011. Characterization of petroleum hydrocarbon decomposing fungi isolated from mangrove rhizosphere. *Journal of Tropical Soils* **16** (1). 39-45.
- Goswami, P dan Singh, H. D. (1990). The Effect of Immobilization on Rhamnolipid Production by *Pseudomonas fluorescens*. *Journal Appl. Bacteriol. University of Plymouth* **3** (1): 22-31.

- Halifah, S. A. (2012). *Pencemaran Tanah dan Dampaknya terhadap Lingkungan*. Pontianak: Jurusan Pendidikan MIPA, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Tanjungpura.
- Handrianto, P., Rahayu, S. Y., Yuliani. (2012). Teknologi Bioremediasi dalam Mengatasi Tanah Tercemar Hidrokarbon. *Prosiding Seminar Nasional Kimia Unesa 2012*, Surabaya: FMIPA Universitas Negeri Surabaya, 25 Februari 2012, hal. 22-30.
- Hapsari, P. P dan Trihadiningrum, Y. (2014). *Pengolahan Lumpur Berminyak dengan Metode Co-composting*. Surabaya: Jurusan Teknik Lingkungan, FTSP-ITS.
- Hardjowigeno, S. (2003). Ilmu Tanah. *Akademika Pressindo*. Jakarta.
- Hargreaves, T. (2003). *Chemical Formulation: An Overview of Surfactant-Based Preparations Used In Everyday Life*. Cambridge : RSC Paperbacks.
- Harmita. (2004). Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian* **1** (3). 117-135.
- Head, I. M., Jones, D. M., Roling, W. F. (2006). Marine Microorganisms make a Meal of Oil, *Nature Reviews Microbiology* **4** (3). 173-182.
- Helmy, Q., Hidayat, S., Kardena, E., Nurachman, Z., dan Wisjnuprpto. (2010). Produksi Biosurfaktan Dalam Fermentor 10 Liter Dan Aplikasinya Dalam Bioremediasi Tanah Tercemar Minyak Bumi. *Jurnal Penelitian Masalah Lingkungan di Indonesia*. 195-205.
- Horowitz, A., D., Gutnick., Rosenberg, E. (2005). Sequential Growth of Bacteria on Crude Oil. *Applied Microbiology* **30** (1). 10-19.
- Interstate Technology and Regulatory Cooperation (ITRC) Work Group. (1997). Technical and Regulatory Guidelines for Soil Washing, *Soil Washing Project, Environmental Research Institute of the States (ERIS)*.
- Jahanshah, G., Nahvi, I., Zarkesh-Eshvani, S. H., Ghanavati, H., Khodaverdi, H., dan Morteza, B. (2012). Enhancing Compost Quality by Using Whey-Grown Biosurfactant-Producing Bacteria as Inocula. *Annals of Microbiologi* **63** (1). 91-100.
- Jain, P. K., Gupta, V. K., Gaur, R. K., Lowry, M, Jaroli, D. P, dan Chauhan, U. K. (2011). Bioremediation of Petroleum Oil Contaminated Soil and Water. *Research Journal of Environment Technology* **5** (1). 1-26.
- Jain, N. K dan Sharma, S. N. (1998). *A Text Book of Professional Pharmacy, 4th edition*.
- Joshi, S., Bharucha, C., Jha, S., Yadav, S., Nerurkar, A., dan Desai, A. J. (2008). Biosurfactant production using molasses and whey under thermophilic conditions. *Bioresour. Technol* **99** (1). 195–199.
- Juliani, A. dan Rahman, F. (2011). Bioremediasi Lumpur Minyak (*Oil Sludge*) dengan Penambahan Kompos sebagai *Bulking Agent* dan Sumber Nutrien Tambahan. *Jurnal Sains dan Teknologi Lingkungan*, **3** (1), 1-18.
- Kakinuma, A., Arima, K., dan Tamura, G. (1969). Surfactin, a Crystalline Peptide Lipid Surfactant Produced by *Bacillus subtilis*: Isolation, Characterization and its Inhibition of Fibrin Clot Formation, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **31**. 488-494

- Karwati. (2009). *Degradasi Hidrokarbon pada Tanah Tercemari Minyak Bumi dengan Isolat A10 dan D8*. Bogor: Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
- Kim, S.H., Lim, E.J., Lee, S.K., Lee, J.D., dan Lee, T.H. (2000). Purification and Characterization of Biosurfactant from *Nocardia* sp. L-147. *Biotechnol. Appl. Biochem.* **31** (4). 249-253.
- Kirk, J. L., Beaudette, L. A., Hart, M., Moutoglis, P., Klironomos, J. N., dan Lee, H. (2004). Methods of studying soil microbial diversity. *Journal Microbiol Methods* **58** (1). 169–188.
- Kulikowska, D., Gustiatin, Z. M., Bulkowska, K., Kierklo, K. (2015). Humic Substance from Sewerage Sludge Compost as Washing Agent Effectively Remove Cu and Cd from Soil. *Journal of Chromosphere* **136** (1). 42-49.
- Lai, C. C., Huang, Y. C., Wei, Y. H., dan Chang, J. S (2009) Biosurfactant-enhanced removal of total petroleum hydrocarbons from contaminated soil. *Hazard Mater* **167** (2). 609–14.
- Lin Soo, Ee., Basri, M., Salleh, A. B., dan Kamaruddin, K. (2003). Optimization of the Enzyme-Catalyzed Synthesis of Amino Acid-Based Surfactants from Palm Oil Fractions. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **95**. 361-368.
- Long, X., Hea, N., Hea, Y., Jianga, J., Wua, T. (2017). Biosurfactant surfactin with pH-regulated emulsification activity for efficient oil separation when used as emulsifier. *Biosurfactant Technology* **17** (1). 1-28.
- Marin, J. A., Moremo, J. L., Hernandez, T., Garcia, C. (2006). Bioremediation by Composting of Heavy Oil Refinery Sludge in Semiarid Conditions. *Biodegradation* **17** (1). 251-261.
- Maletić, S., Dalmacija, B., Rončević, S., Agbaba, J., dan Ugarčina Perović, S. (2011). Impact of hydrocarbon type, concentration and weathering on its biodegradability in soil. *Journal of Environmental Science and Health* **46** (10). 1042-1049.
- Margesin, F. dan Schinner, F. (2005). *Manual of Soil Analysis: Monitoring and Assessing Soil Bioremediation*. Innsbruck, Austria: Springer.
- Marsaoli, M. (2004). Kandungan Bahan Organik n-Alkana, Aromatik dan Total Hidrokarbon dalam Sedimen di Perairan Raha Kabupaten Muna, Sulawesi Tenggara, *Jurnal Makara Saints* **8** (3). 116-122.
- Miller, R. M.. (1995). Surfactant-enhanced bioavailability of slightly soluble organic compounds. *Bioremediation Science and Applications* **43** (4). 33-46.
- Mizwar, A., dan Trihadiningrum, Y. (2015). Penyisihan Polycyclic Aromatic Hydrocarbons pada Tanah Terkontaminasi Batubara dengan Metode Co-composting. *Surabaya: Jurusan Teknik Lingkungan, FTSP-ITS*.
- Modler, R. F., Willhalm, R., dan Yoshida, Y. (2007). CEHMarketing Research Report Linear Alkylate Sulfonates. *CEH Public Reports*.
- Mohan, P. K., Nakhla, G., dan Yanful, E. K. (2006). Biokinetics of Biodegradability of Surfactants under Aerobic, Anoxic, and Anaerobic Conditions. *Water Resources* **40** (1). 533-540.
- Moretto, L. M., Silvestri, S., Ugo, P., Zorzi, G., Abbondanzi, F., Baiocchi, C., dan Lacondini, A. (2005). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Degradation by

Composting in A Soot-Contaminated Alkaline Soil. *Journal of Hazardous Materials*, 126, 141-148.

- Muhtar, I. (2001). *Proses Pengolahan Migas*. Akademi Minyak dan Gas Bumi. Cepu.
- Mulligan, C. N., Yong, R. N., Gibbs, B. F. (2001). Surfactant-enhanced remediation of contaminated soil: A review. *Eng Geol* **60** (2). 371–80.
- Neff, J. M., S. Ostazeski, W., Gardiner., dan Stejskal, I. (2000). Effects of weathering on the toxicity of three offshore Australian crude oils and a diesel fuel to marine animals, *Environmental Toxicology Chemistry* **19** (7). 1809-1821.
- Nilanjana, D., Chandran, P. (2010). Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbons Contaminants: An Overview. *Biotechnology Research International* **13** (2). 84-91.
- Ni'matuzahroh, Fatimah, Affandi, M., Supriyanto, A., dan Alami, H. N. (2009). Laporan Stranas. Departemen Biologi Universitas Airlangga. Surabaya.
- Ni'matuzahroh, Alami, N., Thoha, A. F. K., dan Nurhayati, T. (2010). Studi Kinetika Produksi Biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP pada Substrat Molase. *Journal of Biological Reseaches* 16. 33-38.
- Ni'matuzahroh, Pratiwi, I. A., Surtiningsih, T., Fatimah, dan Sumarsih, S. (2012). Potensi Bakteri *Micrococcus* sp. l ii 61 Sebagai Agen Pelarut Lumpur Minyak. Seminar Nasional Biodiversitas II Departemen Biologi Universitas Airlangga. Surabaya.
- Ni'matuzahroh, Junairiah, Nurhariyati, T., Suaibah, dan Sulitiorini, L. (2015). Identification of Bioactive Compounds of *Thuidium tamariscellum*. *4th International Postgraduate Conference on Biotechnology (IPCB)*.
- Noordman, W. H., Wachter, J. H. J., De Boer, G. J., dan Janssen, D. B. (2002). The enhancement by surfactants of hexadecane degradation by *Pseudomonas aeruginosa* varies with substrate availability, *Journal Biotechnology* 94 (2). 195–212.
- Nugroho, A. (2006). Produksi Biosurfaktan oleh Bakteri Pengguna Hidrokarbon dengan Penambahan Variasi Sumber Karbon, *Biodiversitas* **7** (4). 312-316.
- Paria, S. (2008). Surfactant-enhanced remediation of organic contaminated soil and water. *Adv Colloid Interface Sci* **138** (3). 24–58.
- Patnaik, P. (1999). A comprehensive guide to the properties of hazardous chemical substances, 2nd edition, *John Wiley & Sons Publishers*.
- Pelczar, A. R., dan Chan, E. C. S. (2006). Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid ke-1. *Jakarta: UI-Press*.
- Pratiwi, I. A. (2012). Pengaruh Variasi Konsentrasi *Crude Enzyme* Lipase *Micrococcus* sp. L II 61 dan Biosurfaktan *Acinetobacter* sp. P2 (1) Terhadap Kelarutan *Oil Sludge* [Skripsi]. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Airlangga, Surabaya.

- Pruthi, V. Cameotra, S. S. (1997). Short Communication : Production of Biosurfactant Exhibiting Excellent Emulsification and Surface Active Properties by *Serratia marcescens*". *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **13** (1). 133-135.
- Ratnawati, R., dan Trihadiningrum, Y. (2016). *Teknologi Pengomposan Limbah Padat Rumah Potong Hewan*. Surabaya: Jurusan Teknik Lingkungan, FTSP-ITS.
- Raza, Z. A., Rehman, A., Khan, M. S., dan Khalid, Z. M. (2007). Improved production of biosurfactant by a *Pseudomonas aeruginosa* mutant using vegetable oil refinery wastes. *Biodegradation* **18** (1). 115-12.
- Risayekti. (2004). Bahan Bakar Minyak dan Pelumas, *Pusat Pendidikan dan Pelatihan Minyak dan Gas Bumi*. Cepu.
- Malavenda, R., Rizzo, C., Michaud, L., Gerce, B., Bruni, V., Syldatk, C., Hausmann, R. (2015). Biosurfactant Production by Arctic and Antarctic Bacteria Growing Hydrocarbons. *Polar Biology* **38** (10). 1565-1574.
- Ron, E. Z., dan Rosenberg, E. (2001). Natural Roles of Biosurfactants. *Environ. Microbiol* **3** (4). 229-236.
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J., Quinn M., E. (2009). *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. Lexi-Comp: American Pharmaceutical Association, Inc. 418-685.
- Ruggeri, C., Franzetti, A., Bestetti, G., Caredda, P., La Colla, P., Pintus, M., Sergi, S., Tamburini, E. (2009). *Isolation and characterisation of surface active compound-producing bacteria from hydrocarbon-contaminated environments*. *Int. Biodeter. Biodegrad.* **63** (1). 936-942
- Ryckeboer, J., Coosemans, J., Swings, J., Mergaert, J., dan Gestel, V. K. (2003). Bioremediation of Diesel Oil-Contaminated Soil by Composting with Biowaste. *Environ Pollute* **125** (3). 361-368.
- Sakthiparya, N., Doble, M., dan Sangwai, J. S. (2015). Action of Biosurfactant Producing Thermophilic *Bacillus Subtilis* on Waxy Crude Oil and Long Chain Paraffins. *International Biodeterioration and Biodegradation* **105** (1). 168-177.
- Sam, J., Butalia, T., Sharma, S., and Rahman, P. K. S. M. (2017). Biosurfactant Producing Bacteria from Hydrocarbon Contaminated Environment. *Biodegradation and Bioconversion of Hydrocarbon* **16** (1). 259-305.
- Samanta, T. D., Ghosh, T., dan Laskar, S. (2013). Variation of Hydrocarbon Constituents of Epicuticular Wax of Leaves of *Litchi chinensis* Sonn. *The South Pacific Journal of Natural and Applied Sciences* **31** (1). 73-79.
- Sari, G. L., Mizwar, A., dan Trihadiningrum, Y. (2015). Pengaruh Tanah terhadap Proses Biodegradasi *Polycyclic Aromatic Hydrocarbon* (PAH) pada Tanah Terkontaminasi Batubara. *Jurnal Teknologi Universitas Muhammadiyah Jakarta* **8** (1). 31-38.

- Satpute, S. K., Banat, I. M., Dhakephalkar, P. K., Banpurkar., Chopade, B. A. (2010). Biosurfactants, bioemulsifiers and exopolysaccharides from marine microorganisms, *Biotechnol. Adv* **28** (4). 436–450.
- Savarino, P., Montoneri, E., Biasizzo, M., Quagliotto, P, Viscardi, G. dan Boffa, V. (2007). Upgrading Biomass Wastes in Chemical Technology. Humic Acid-Like Matter Isolated from Compost as Chemical Auxiliary for Textile Dyeing. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* **82** (1). 939–948.
- Sawadogo, A., Otoidobig, C, A., Nitiema, L, W., Traore, S, A., dan Dianou, D. (2016). Optimization of Hydrocarbons Biodegradation by Bacterial Strains Isolated from Wastewater in Oagadougou, Burkina Faso: Case Study of SAE 40/50 Used Oils and Diesels. *Journal of Agricultural Chemistry and Environment* **5** (1). 1 -11.
- Sayara, T., Sarra, M., dan Sanchez, A. (2010). Effect of Compost Stability and Contaminant Concentration on The Bioremediation of PAHs-Contaminated Soil Through Composting. *Journal of Hazardous Materials* **179** (1). 999-1006.
- Schlegel dan Hans, G. (1994). *Mikrobiologi Umum*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press, 501.
- Semple, K. T., Reid, B. J., dan Fermor, T. R., (2001). Review: Impact of composting strategies on the treatment of soils contaminated with organic pollutants. *Environ. Pollution* **112**. 269-283.
- Sharma, R., Chisti, Y., Banerjee, U, C. (2001). Production, Purification, Characterization, and Application of Lipase. *Journal Biotechnology Advances* **19** (1). 627-662
- Singh, Mrinalini, Sedhuraman, dan Padmavathy. (2015). Biosurfactant, polythene, plastic, and diesel biodegradation activity of endophytic *Nocardopsis* sp. mrinalini9 isolated from *Hibiscus rosasinensis* leaves. *Bioresources and Bioprocessing* **2** (10).1186/1198.
- Singh, A., Van Hamme, J. D., Ward, O. P. (2017). Surfactants in Microbiology and Biotechnology: Part 2. Application Aspect. *Biotechnology Advances* **1** (1). 99-121.
- Smolinske, S. C. (1992). *Handbook of Food, Drug and Cosmetics Excipients*. CRC Press. USA. 295-296.
- Snape, I., Rayner, J. L., Walworth, J. L. (2007). Petroleum-Hydrocarbons Contamination and Remediation by Microbioventing at Sub-Antarctic Macquarie Island. *Cold Regions Science and Technology* **48** (2). 139-153.
- Sukhdev, S., Suma, P, S, K., Longo, G., dan Rakesh, D, D. (2008). Extraction technologies for medicinal and aromatic plants. *International centre for science and high technology* **1** (3). 3-4.
- Suryani, A., I. Sailah dan E. Hambali. (2000). *Teknologi Emulsi*. Jurusan Teknologi Industri Pertanian. IPB, Bogor.
- Tabatabaee, A., Mazaheri, M. A., Noohi, A. A., dan Sajadian, V. A. (2005). Isolation of biosurfactant producing bacteria from oil reservoirs. *Iranian Journal Env. Health Sci Eng.* **2** (1). 6-12.

- Tchobanoglous, G., Theisen, H., dan Vigil, S. A. (1993). *Integrated Solid Waste Management*. New York: McGraw-Hill.
- Thapa B., Kumar, A. K. C., Ghimire, A. (2012). Review on bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminants in soil. *Kathmandu University Journal of Science, Engineering and Technology* **8** (1). 164-170.
- Tom, L. R. (1998). *Municipal solid waste composting: biological processing*. Research Report, Cornell Waste management Institute, Center for the Environment, Hollister Hall, Ithaca, NY.
- Tran, H, Kruijt, M, dan Raaijmakers, J. M. (2008). Diversity and activity of biosurfactant producing *Pseudomonas* in the rhizosphere of black pepper in Vietnam. *Journal of Applied Microbiology* **104** (3). 839-51.
- Trihadiningrum, Y. (2012). *Mikrobiologi Lingkungan*. Surabaya: ITS Press.
- Udiharto, M. (2005). *Pemanfaatan Bioreaktor untuk Penanggulangan Lumpur Berminyak*. Cepu: Yayasan Kesejahteraan Warga Migas.
- Ulum, B. (2004). Pengaruh Konsentrasi Molase dan Natrium Nitrat terhadap Produksi Biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP. [Skripsi]. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Urum, K., Grigson, S, Pekdemir, T., McMenemy, S. (2006). A comparison of the efficiency of different surfactants for removal of crude oil from contaminated soils. *Chemosphere* **62** (4). 1403–10.
- Urum, K., Pekdemir, T., Gopur, M. (2003). Optimum Conditions For Washing Of Crude Oil Contaminated With Biosurfactants Solutions. *Institut of Chemical Engineering* **80** (2). 203-210.
- Urum, K dan Pekdemir, T. (2004). Evaluation of biosurfactants for crude oil contaminated soil washing. *Chemosphere* **57** (1). 1139-1150.
- Vanavil, B., Perumalsamy, M., Rao, A. S. (2014). Studies on The Effects of Bioprocess arameters and Kinetics of Ramnolipid Production by *P. aeruginosa* NITT 6L. *Chemical Biochemical Engineering Quarterl* **28** (3), 383-390.
- Van Gestel, K., Mergaert, J., Swings, J., Coosemans, J., dan Ryckeboer J. (2003). Bioremediation of Diesel Oil-Contaminated Soil by Composting with Biowaste. *Environmental Pollution* **125** (1). 361-368.
- Van Hamme, J. D., Singh, A., Ward, O. P. (2003). Recent advances in petroleum microbiology. *Microbiol Moleccular Research* **6** (1). 503-549.
- Volkering, F., Breure, A. M., Rulkens, W. H. (1998). Microbiological Aspects of Surfactant Use For Biological Soil Remediation. *Biodegradation* **8** (1). 401-403.
- Wang, Z., Xu, Y., Zhao, J., Li, F., Gao, D., dan Xing, B. (2011). Remediation of Petroleum Contaminated Soil Through Composting and Rizosphere Degradation. *Journal of Hazardous Materials*, 190, 677-685.

- Widodo. (2010). Uji efektivitas Biosurfaktan dari *Acinetobacter* sp. p2(1) dan *Pseudomonas putida* T1(8) dalam Memobilisasi Minyak Mentah Menggunakan *Sand Pack Column*. [Skripsi]. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Wilson, S. C., Jones, K. C. (1993). Bioremediation of Soil Contaminated With Polynuclear Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A Review, *Environmental Pollution* **81** (3). 229-249.
- Zhang, B. Y., Huang, G. H., Chen, B., Guo, Q., dan Zeng, G. M. (2002). Production of Biosurfactant in Batch Reactor for Food Waste Composting. *Waste Management and the Environment* **12** (7). 1-10.
- Zhang, B. Y., Huang, G. H., Chen, B., Guo, Q., dan Zeng, G. M. (2011). Production of Biosurfactants in Batch Reactor for Food Waste Composting. *Waste Management and the Environment* **12** (7). 1-10.
- Zhang, J., Lin, X., Liu, W., Wang, Y., Zeng, J., dan Chen, H. (2012). Effect of Organic Wastes on The Plant-Microbe Remediation for Removal of Aged PAHs in Soil. *Journal of Environmental Sciences* **24** (8). 1476-1482.
- Zhou, W., Wang, X., Chen, C., dan Zhu, L. (2013). Enhanced soil washing of phenanthrene by a plant-derived natural biosurfactant, Sapindus saponin. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp* **425** (6). 122–8.



***HALAMAN INI SENGAJA DIKOSONGKAN***

## LAMPIRAN A

### PROSEDUR ANALISIS

#### A.1 Ekstraksi Konsorsium Bakteri

Peralatan:

1. Tabung reaksi
2. *Vortex*

Bahan: NaCl

Prosedur kerja analisis:

1. Larutkan 1 g sampel bahan *co-composting* dalam 9 mL NaCl 0,9 % dalam tabung reaksi.
2. Lakukan agitasi menggunakan *shaker* selama 1 jam dengan kecepatan 150 rpm.
3. Konsorsium bakteri yang berada dalam fase cair siap dikulturkan dalam media.



#### A.2 Ekstraksi Sampah Padat Organik

Peralatan:

1. Tabung reaksi
2. Labu erlenmeyer
3. Kertas saring

Bahan:

1. Sampah kebun dan rumen sapi
2. Aquadest

3. NaOH 1% dan 4%

Prosedur kerja analisis:

1. Larutkan 10 g sampel dengan 40 mL aquadest
2. Lakukan *shaker* dengan kecepatan 100 rpm selama 2 jam
3. Saring menggunakan kertas saring
4. Ulangi langkah (1) sampai (3) sebanyak 3 kali
5. Residu organik dikeringkan di oven selama 24 jam pada suhu 60°C, setelah itu dihaluskan
6. Rendam dengan NaOH selama 72 jam dengan suhu 50°C
7. Saring menggunakan kertas saring lalu didiamkan
8. Lakukan waterbath pada filtrat hasil saringan
9. Hasil ekstraksi menggunakan aquadest (langkah 1 – langkah 3) dicampur dengan hasil ekstraksi menggunakan NaOH



### **A.3 Ekstraksi Biosurfaktan**

#### **A.3.1 Media Minyak Bumi**

Peralatan:

1. Erlenmeyer 250 mL
2. Shaker

Bahan

1. Kultur bakteri
2. Minyak bumi
3. Air Mineral Sintesis (AMS)
4.  $K_2HPO_4$
5.  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$

Prosedur kerja analisis:

1. Sterilkan erlenmeyer dan media.
2. Erlenmeyer 250 mL diisi dengan 81 mL campuran AMS dan 6 mL minyak bumi.
3. Tambahkan 4,5 mL stok  $K_2HPO_4$  dan 4,5 mL stok  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  serta 4 mL starter bakteri.
4. Kultur bakteri diinkubasi dalam shaker dengan kecepatan 120 rpm selama 7 hari.



### A.3.2 Media Ekstrak Sampah

Peralatan:

1. Erlenmeyer 250 mL
2. Shaker

Bahan:

1. Kultur bakteri
2. Ekstrak sampah

Prosedur kerja analisis:

1. Sterilkan erlenmeyer dan media.
2. Erlenmeyer 250 mL diisi dengan 96 mL ekstrak sampah.
3. Tambahkan 4 mL starter bakteri.
4. Kultur bakteri diinkubasi dalam shaker dengan kecepatan 120 rpm selama 7 hari.



### **A.3.3 Media Ekstrak Sampah dan Minyak Bumi**

Peralatan:

1. Erlenmeyer 250 mL
2. Shaker

Bahan:

1. Kultur bakteri
2. Ekstrak sampah
3. Minyak bumi

Prosedur kerja analisis:

1. Sterilkan erlenmeyer dan media.
2. Erlenmeyer 250 mL diisi dengan 90 mL ekstrak sampah dan 6 mL minyak bumi.
3. Tambahkan 4 mL starter bakteri.
4. Kultur bakteri diinkubasi dalam shaker dengan kecepatan 120 rpm selama 7 hari.

### **A.4 Analisis Tegangan Permukaan (*Tensiometer Du-Nouy*)**

Peralatan:

1. Cawan petri.
2. Tensiometer *Du-Nouy*.

Bahan:

1. Supernatan *biobased* surfaktan.
2. Akuades.

Prosedur kerja analisis:

1. Masukkan 20 mL supernatan *biobased* surfaktan ke dalam cawan petri.
2. Tempatkan cawan petri pada meja sampel yang datar.
3. Gantungkan cincin pada pengait yang terdapat pada tensiometer *Du-Nouy*.



4. Atur skala tensiometer *Du-Nouy* pada angka 0.
5. Naikkan cawan petri perlahan dengan cara memutar alat pengatur di bagian bawah alat hingga cincin tercelup pada permukaan cairan sampel.
6. Gerakkan alat pengatur pada sisi yang lain sehingga cincin terlepas dari sampel.
7. Ulangi langkah 1-6 pada menggunakan akuades sebagai kontrol.
8. Didapatkan skala pada saat cincin terlepas dari sampel yang kemudian dihitung sebagai nilai tegangan permukaan (dyne/cm) dengan rumus:

$$r = r_0 \times \frac{\theta}{\theta_0}$$

di mana,

$r$  = tegangan permukaan sampel

$r_0$  = tegangan permukaan akuades pada  $t^\circ\text{C}$

$\theta$  = tegangan permukaan sampel yang terbaca pada alat

$\theta_0$  = tegangan permukaan akuades yang terbaca pada alat

Penurunan nilai tegangan permukaan ( $>10$  dyne/cm) menunjukkan bahwa bakteri tersebut berpotensi menghasilkan biosurfaktan.

### A.5 Analisis aktivitas emulsifikasi (Pruthi dan Cameotra)

Peralatan:

1. Tabung reaksi.
2. *Vortex*.

Bahan:

1. Supernatan *biobased* surfaktan.
2. Minyak bumi.

Prosedur kerja analisis:

1. Masukkan 1 mL supernatan *biobased* surfaktan ke dalam tabung reaksi.
2. Tambahkan 1 mL minyak bumi yang berperan sebagai minyak uji ke dalam tabung reaksi.
3. Dilakukan agitasi pada tabung reaksi menggunakan *vortex* selama 3 menit.
4. Diamati aktivitas emulsifikasi *biobased* surfaktan 1 jam dan 24 jam setelah langkah 3 selesai dengan mengukur tinggi emulsi (cm) terhadap total cairan (cm) menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ Emulsifikasi} = \frac{\text{tinggi emulsi}}{\text{tinggi total cairan}} \times 100\%$$



## A.6 Uji Kelarutan Hidrokarbon oleh Biosurfaktan Melalui *Soil Washing* dengan Metode *Rotary Agitator*

Peralatan:

1. Botol berbahan kaca
2. *Rotary Agitator*
3. *Beaker glass*
4. Gelas ukur

Bahan:

1. Ekstrak biosurfaktan
2. Tanah terkontaminasi minyak bumi
3. N-heksane
4. Tween 80

Prosedur kerja analisis:

1. Tanah terkontaminasi diambil kurang lebih sebanyak 15 gram, lalu diaduk (dihomogenkan). Sampel dibagi menjadi 3 masing-masing 5 gram untuk analisis kandungan hidrokarbon awal (sebelum *soil washing*) dan untuk proses *soil washing* satu sumber biosurfaktan.
2. Biosurfaktan dengan volume 50 mL dimasukkan pada botol kaca yang telah berisi sampel tanah tercemar (5 gram). Hal ini sesuai dengan rasio massa tanah:volume biosurfaktan sebesar 1:10.
3. Botol kaca berisi campuran sampel *soil washing* dimasukkan pada wadah agitasi dan dipasang pada alat *rotary agitator* untuk diagitasi dengan kecepatan 200 rpm selama 20 jam.





4. Setelah *soil washing* sampel didiamkan selama 24 jam untuk stabilisasi sampel hasil *soil washing*. Lalu dipisahkan fase padat dan *liquid*-nya dengan centrifugasi pada kecepatan 2000 rpm selama 20 menit dan melalui proses dekantasi serta filtrasi.
5. Sampel tanah (endapan) dianalisis kandungan hidrokarbon akhirnya dengan menggunakan metode ekstraksi dan gravimetri.



#### **A.7 Analisis Kadar Hidrokarbon (Metode Ekstraksi *Soxhlet* dan Gravimetri)**

Peralatan:

1. Peralatan ekstraksi *soxhlet*, dengan labu ekstraksi 125 ml
2. Tabung ekstraksi
3. Pemanas elektrik
4. *Vacuum pump*
5. Peralatan filtrasi *vacuum*
6. *Buchner funnel*, 12 cm
7. Kertas saring, diameter 11 cm
8. Piringan kain kassa, diameter 11 cm
9. *Glass beads/ glass wool*
10. *Water bath*, mampu menahan 85°C
11. *Distilling adapter* dengan tetesan di ujung
12. *Water bath*
13. Wadah siap pelarut
14. Desikator
15. Neraca analitik

Bahan:

n-Heksana: kemurnian minimum 85%, isomer C6 jenuh minimum 99%, residu kurang dari 1 mg/L, didistilasi jika perlu

Prosedur kerja analisis:

1. Labu destilasi kosong diambil dari dalam oven kemudian dimasukkan ke dalam desikator selama 15 menit lalu ditimbang dengan neraca analitik.
2. Kertas saring kosong ditimbang dengan neraca analitik.
3. Berat awal sampel sebanyak 5 g ditimbang dengan neraca analitik, kemudian dicatat hasil penimbangannya (sampel dan kertas saring).



4. Kertas saring yang berisi sampel dilipat dan ditutup hingga rapat.
5. Kertas saring hasil penyaringan sampel dimasukkan ke dalam *extraction thimble*.



6. Labu destilasi kosong diisi dengan 100 ml pelarut ekstraksi (n-Heksana).
7. Peralatan ekstraksi soxhlet dirangkai.

8. Minyak diekstraksi pada peralatan soxhlet pada laju 20 putaran/jam selama 4 jam. Ekstraksi ini dilakukan minimal 4 jam atau hingga pelarut dalam *thimble* kembali berwarna bening seperti semula.
9. Ekstraksi dihentikan, kemudian ditambahkan *silica gel* sebanyak 3 g untuk menyerap asam lemak dan air yang terlarut dalam ekstrak sehingga didapatkan hidrokarbon murni.
10. Labu kemudian distirrer selama 5 menit yang kemudian disaring sehingga didapatkan supernatan hidrokarbon.
11. Supernatan diuapkan untuk menghilangkan pelarut menggunakan *waterbath* hingga didapatkan ekstrak hidrokarbon murni.
12. Kandungan hidrokarbon dihitung dengan rumus:

$$\text{Kandungan hidrokarbon (\%)} = \frac{\text{berat ekstrak hidrokarbon}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

**LAMPIRAN B**  
**DATA HASIL ANALISIS**

**A. Nilai pH Sebelum Inkubasi**

No	Sampel	Hari ke	pH
1	TS	0	7
2		20	6,5
3		40	6,5
4		60	6
1	SK	0	7
2		20	6
3		40	6
4		60	6
1	RS	0	10
2		20	9
3		40	8
4		60	7,5
1	T	0	6
2		20	6
3		40	5,5
4		60	5

## B. Nilai pH Sesudah Inkubasi

Sumber Rasio Optimum  
(TS)

Sampel	pH			
	H-0	H-20	H-40	H-60
TS0 (1)	10	9	8	8
TS0 (2)	10	9	8	8
TS2 (1)	4	3	3	3
TS2 (2)	3	3	3	3
TS02 (1)	12	10	9	7
TS02 (2)	11	10	9	7

Sumber Sampah Kebun  
(SK)

Sampel	pH			
	H-0	H-20	H-40	H-60
SK0 (1)	12	12	11	9
SK0 (2)	12	12	11	9
SK2 (1)	3	3	2	2
SK2 (2)	3	3	2	2
SK02 (1)	14	12	11	8
SK02 (2)	13	12	11	8

Sumber Rumen Sapi (RS)

Sampel	pH			
	H-0	H-20	H-40	H-60
RS0 (1)	11	9	9	9
RS0 (2)	11	9	9	9
RS2 (1)	4	3	3	3
RS2 (2)	4	3	3	3
RS02 (1)	12	10	10	8
RS02 (2)	11	10	10	8

Sumber Tanah Tercemar  
(T)

Sampel	pH			
	H-0	H-20	H-40	H-60
T0 (1)	12	12	12	10
T0 (2)	12	12	12	10
T2 (1)	5	4	3	3
T2 (2)	5	4	3	3
T02 (1)	13	12	9	8
T02 (2)	13	12	9	8

### C. Jumlah Populasi Bakteri

Sampel	Kode	Total Populasi Bakteri Hari ke- (CFU/ml)							
		H-0		H-20		H-40		H-60	
		(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)
Rasio Optimum Tanah dan Sampah	TS0	2,54E+04	6,20E+04	1,35E+06	2,60E+05	3,20E+07	2,44E+06	4,40E+07	1,71E+06
	TS2	3,30E+04	5,60E+03	1,33E+05	1,12E+05	2,04E+03	5,90E+05	4,80E+07	5,10E+07
	TS02	4,80E+04	1,44E+06	2,48E+05	2,26E+05	2,45E+06	7,10E+05	1,52E+17	1,70E+10
Sampah Kebun	SK0	3,10E+05	4,10E+05	7,40E+04	3,30E+06	3,20E+05	7,90E+07	3,30E+07	1,40E+08
	SK2	3,90E+03	3,20E+03	4,91E+03	3,20E+03	2,26E+05	6,60E+04	3,10E+07	6,30E+06
	SK02	2,41E+05	4,27E+05	2,29E+04	1,65E+06	5,30E+05	4,40E+05	1,40E+11	2,41E+13
Rumen Sapi	RS0	5,70E+03	7,40E+04	2,49E+07	1,37E+04	1,63E+06	2,50E+05	2,08E+08	5,90E+07
	RS2	6,70E+03	6,10E+02	7,50E+04	4,40E+05	2,70E+04	6,10E+04	4,20E+06	5,50E+06
	RS02	1,03E+05	7,10E+02	3,10E+06	3,20E+03	8,40E+05	2,45E+06	5,90E+16	2,49E+11
Tanah Terkontaminasi	T0	7,40E+03	6,30E+04	1,24E+07	2,38E+08	2,45E+05	1,90E+04	2,32E+08	6,20E+07
	T2	2,90E+02	2,80E+01	5,10E+03	1,61E+04	2,25E+04	1,05E+04	1,94E+08	8,20E+06
	T02	1,10E+02	4,10E+03	2,49E+05	4,40E+04	5,40E+05	4,10E+05	1,29E+10	5,50E+13

#### D. Tegangan Permukaan

<b>Sampel 1</b>				
<b>Sampel</b>	<b>Tegangan Permukaan (dyne/cm)</b>			
	<b>H-0</b>	<b>H-20</b>	<b>H-40</b>	<b>H-60</b>
<b>Sumber Rasio Optimum Tanah per Sampah (TL)</b>				
TS0	43,8	36,1	38,5	66,6
TS2	60,1	55,3	63,9	62,6
TS02	46,1	41,0	20,31	57,4
<b>Sumber Sampah Kebun (SK)</b>				
SK0	44,5	38,3	41,6	66,4
SK2	54,6	62,9	62,9	62,7
SK02	46,9	43,1	42	60,0
<b>Sumber Rumen Sapi (RS)</b>				
RS0	46,1	38,6	38,3	63,4
RS2	51,0	57,6	58,5	61,3
RS02	47,0	39,3	41,7	59,7
<b>Sumber Tanah Tercemar (T)</b>				
T0	43,8	37,6	43,0	63,6
T2	64,6	59,8	54,8	62,0
T02	45,0	41,9	41,6	60,6



<b>Sampel 2</b>				
<b>Sampel</b>	<b>Tegangan Permukaan (dyne/cm)</b>			
	<b>H-0</b>	<b>H-20</b>	<b>H-40</b>	<b>H-60</b>
<b>Sumber Rasio Optimum Tanah per Sampah (TS)</b>				
TS0	43,5	36,2	39,6	63,9
TS2	60,7	55,5	54,0	60,8
TS02	46,2	41,7	20,10	60,7
<b>Sumber Sampah Kebun (SK)</b>				
SK0	44,7	38,8	41,2	66,5
SK2	53,3	61,4	56,3	62,7
SK02	46,6	43,4	39,8	60,2
<b>Sumber Rumen Sapi (RS)</b>				
RS0	45,9	38,5	38,7	65,0
RS2	51,2	58,6	57,6	59,4
RS02	46,9	39,5	41,7	58,2
<b>Sumber Tanah Tercemar (T)</b>				
T0	44,1	37,3	38,2	65,0
T2	64,8	60,0	58,1	58,3
T02	45,0	42,2	40,5	57,2

<b>Rata-rata</b>				
<b>Sampe l</b>	<b>Tegangan Permukaan (dyne/cm)</b>			
	<b>H-0</b>	<b>H-20</b>	<b>H-40</b>	<b>H-60</b>
Sumber Rasio Optimum Tanah per Sampah (TL)				
TS0	43,7	36,2	39,1	65,3
TS2	60,4	55,4	59,0	61,7
TS02	46,2	40,9	20,2	59,1
Sumber Sampah Kebun (SK)				
SK0	44,6	38,6	41,4	66,45
SK2	54,5	62,2	59,6	62,7
SK02	46,8	43,3	40,9	60,1
Sumber Rumen Sapi (RS)				
RS0	46,0	38,6	38,5	64,2
RS2	51,1	58,1	58,05	60,35
RS02	47,0	39,4	41,7	58,95
Sumber Tanah Tercemar (T)				
T0	43,9	37,5	40,6	64,3
T2	64,7	59,9	39,45	60,15
T02	45,3	42,1	41,05	58,9

### E. Aktivitas Emulsifikasi

<b>Sampel 1</b>				
<b>Sampel</b>	<b>Aktivitas Emulsifikasi (%)</b>			
	<b>H-0</b>	<b>H-20</b>	<b>H-40</b>	<b>H-60</b>
<b>Sumber Rasio Optimum Tanah per Sampah (TL)</b>				
TS0	4,1	7,6	12,0	5
TS2	0,0	2,2	1,5	0
TS02	3,8	12,3	10,0	4,5
<b>Sumber Sampah Kebun (SK)</b>				
SK0	6,9	8,3	4,5	3
SK2	0,0	0,0	0	0
SK02	4,6	12,8	10	3,5
<b>Sumber Rumen Sapi (RS)</b>				
RS0	3,3	0,0	11	2
RS2	0,0	0,0	0	0
RS02	2,1	4,1	27	7,5
<b>Sumber Tanah Tercemar (T)</b>				
T0	6,2	0,0	3,5	4,5
T2	0,0	0,0	0	0
T02	3,4	0,0	17	7,5

<b>Sampel 2</b>				
<b>Sampel</b>	<b>Aktivitas Emulsifikasi (%)</b>			
	<b>H-0</b>	<b>H-20</b>	<b>H-40</b>	<b>H-60</b>
<b>Sumber Rasio Optimum Tanah per Sampah (TL)</b>				
TS0	4,1	7,6	12,0	5
TS2	0,0	2,2	1,5	0
TS02	3,8	12,3	10,0	4,5
<b>Sumber Sampah Kebun (SK)</b>				
SK0	6,9	8,3	4,5	3
SK2	0,0	0,0	0	0
SK02	4,6	12,8	10	3,5
<b>Sumber Rumen Sapi (RS)</b>				
RS0	3,3	0,0	11	2
RS2	0,0	0,0	0	0
RS02	2,1	4,1	27	7,5
<b>Sumber Tanah Tercemar (T)</b>				
T0	6,2	0,0	3,5	4,5
T2	0,0	0,0	0	0
T02	3,4	0,0	17	7,5

<b>Rata-rata</b>				
<b>Sampel</b>	<b>Aktivitas Emulsifikasi (%)</b>			
	<b>H-0</b>	<b>H-20</b>	<b>H-40</b>	<b>H-60</b>
<b>Sumber Rasio Optimum Tanah per Sampah (TL)</b>				
TS0	4,1	7,6	12,0	5
TS2	0,0	2,2	1,5	0
TS02	3,8	12,3	10,0	4,5
<b>Sumber Sampah Kebun (SK)</b>				
SK0	6,9	8,3	4,5	3
SK2	0,0	0,0	0	0
SK02	4,6	12,8	10	3,5
<b>Sumber Rumen Sapi (RS)</b>				
RS0	3,3	0,0	11	2
RS2	0,0	0,0	0	0
RS02	2,1	4,1	27	7,5
<b>Sumber Tanah Tercemar (T)</b>				
T0	6,2	0,0	3,5	4,5
T2	0,0	0,0	0	0
T02	3,4	0,0	17	7,5

## F. Mobilisasi Hidrokarbon oleh Biosurfaktan

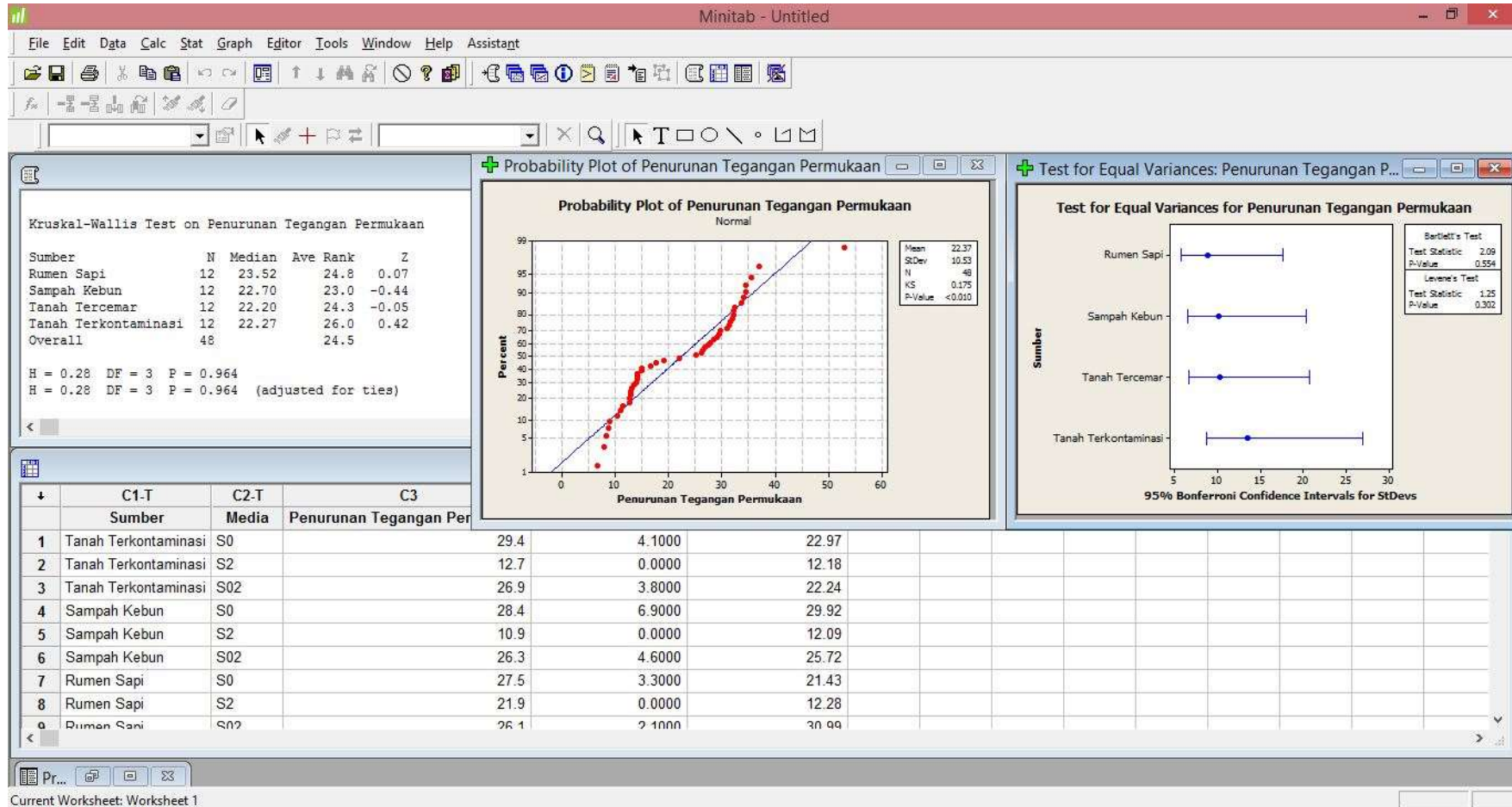
Sampel	Hari ke	Desorpsi Hidrokarbon (%)			STD
		1	2	Rata-rata	
TS0	H0	20,25	25,7	22,97	0,997
	H20	27,56	26,15	26,86	1,435
	H40	24,96	22,93	24,39	2,044
	H60	21,2	24,09	23,94	0,481
TS2	H0	11,84	12,52	12,18	1,683
	H20	16,42	18,8	17,61	1,393
	H40	19,21	17,24	18,23	0,106
	H60	6,46	6,61	6,53	0,269
TS02	H0	22,31	21,93	22,24	0,997
	H20	23,34	21,93	22,65	3,776
	H40	25,74	20,4	23,07	0,106
	H60	22,4	21,95	22,63	0,997
SK0	H0	28,88	29,67	29,92	0,559
	H20	32,01	34,68	33,36	1,888
	H40	31,34	33,77	32,83	1,718
	H60	29,91	30,92	30,92	0,714
SK2	H0	12,11	12,09	12,09	0,014
	H20	19,01	19,82	19,76	0,573
	H40	14,33	18,91	16,71	3,239
	H60	11,12	9,14	10,71	1,400
SK02	H0	24,48	26,99	25,72	1,775
	H20	31,29	29,85	30,37	1,018
	H40	30,12	32,91	31,49	1,973
	H60	29,47	31,93	30,87	1,739
RS0	H0	20,23	23,55	21,43	2,348
	H20	32,4	36,61	34,06	2,977
	H40	28,22	26,12	27,58	1,485
	H60	27,11	26,18	26,24	0,658
RS2	H0	13,23	12,31	12,28	0,651
	H20	14,51	13,22	13,66	0,912
	H40	15,92	18,31	17,75	1,690
	H60	12,86	14,32	13,55	1,032
RS02	H0	29,14	31,02	30,99	1,329
	H20	35,21	34,12	34,63	0,771
	H40	50,23	48,7	48,95	1,082
	H60	34,34	34,27	34,19	0,049

Sampel	Hari ke	Desorpsi Hidrokarbon (%)			STD
		1	2	Rata-rata	
T0	H0	8,34	11,12	9,16	1,966
	H20	11,28	10,31	10,74	0,686
	H40	4,31	5,76	5,72	1,025
	H60	5,22	4,13	4,52	0,771
T2	H0	2,64	2,31	2,44	0,233
	H20	3,21	4,81	4,15	1,131
	H40	3,01	3,87	3,66	0,608
	H60	11,21	12,85	12,12	1,160
T02	H0	13,96	15,2	14,84	0,877
	H20	17,91	19,22	18,72	0,926
	H40	14,05	16,01	15,20	1,386
	H60	13,94	14,71	14,38	0,544

#### G. Mobilisasi Hidrokarbon oleh Tween 80

Konsentrasi Tween (%)	Mobilisasi Hidrokarbon (%)
0	6,02
0,5	25,5
1	39,61
1,5	75,97
2	76,93
2,5	80,63
3	81,98

## H. Hasil Uji Statistik ANOVA





Minitab - Untitled

File Edit Data Calc Stat Graph Editor Tools Window Help Assistant

31

**Kruskal-Wallis Test on Penurunan Tegangan Permukaan**

Media	N	Median	Ave Rank	Z
S0	16	29.25	29.1	1.60
S02	16	28.80	30.3	2.02
S2	16	13.30	14.2	-3.62
Overall	48		24.5	

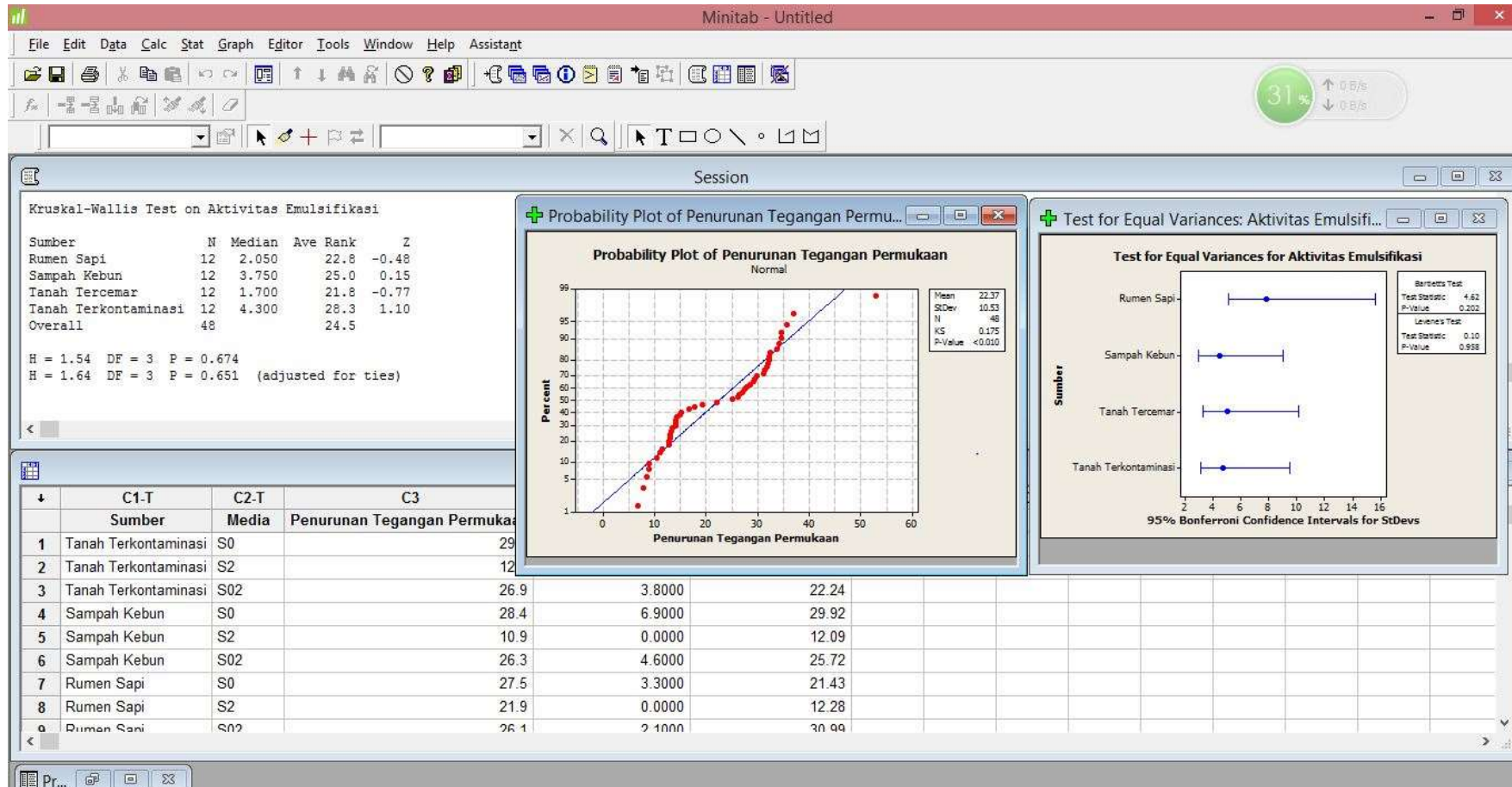
H = 13.16 DF = 2 P = 0.001  
H = 13.16 DF = 2 P = 0.001 (adjusted for ties)

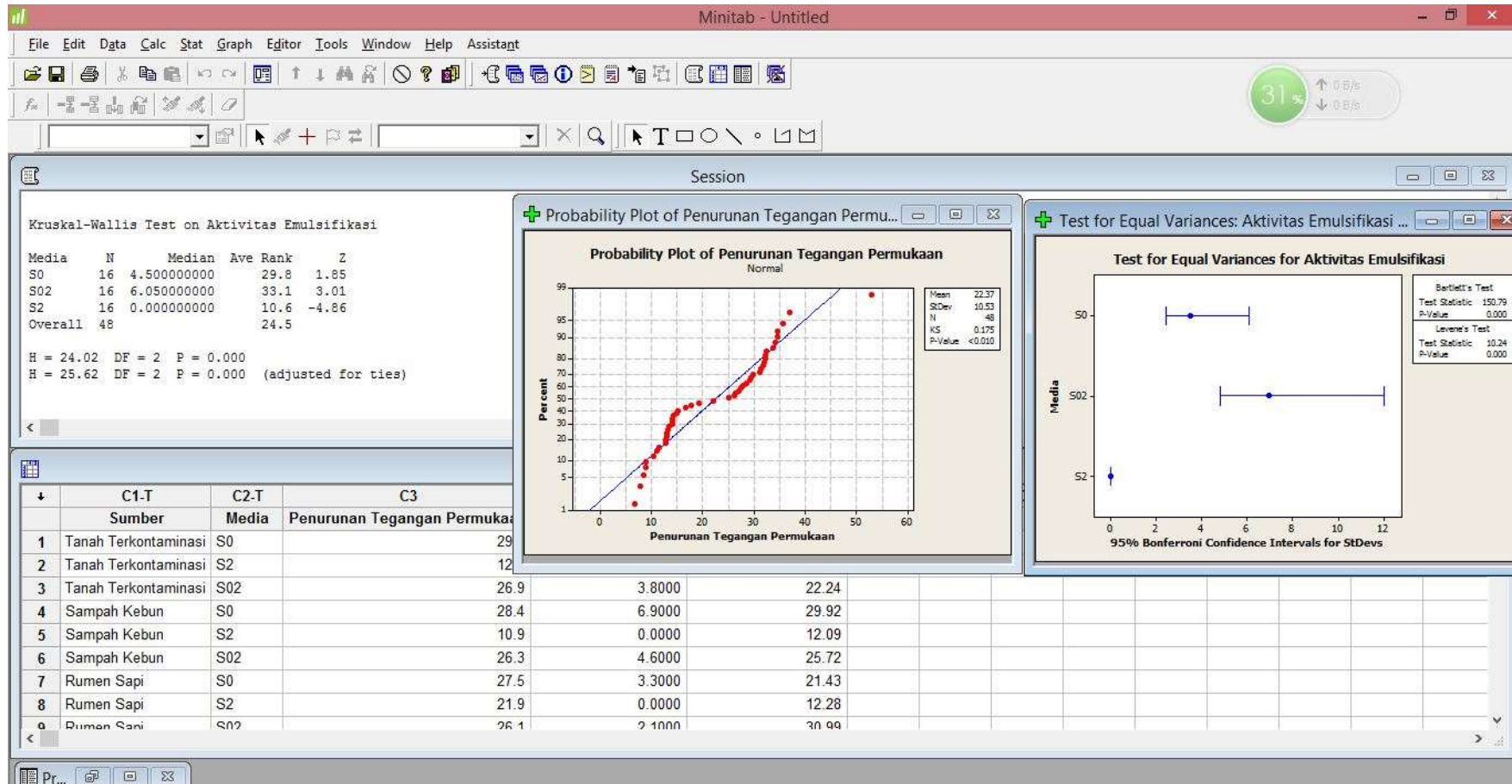
**Probability Plot of Penurunan Tegangan Permukaan**

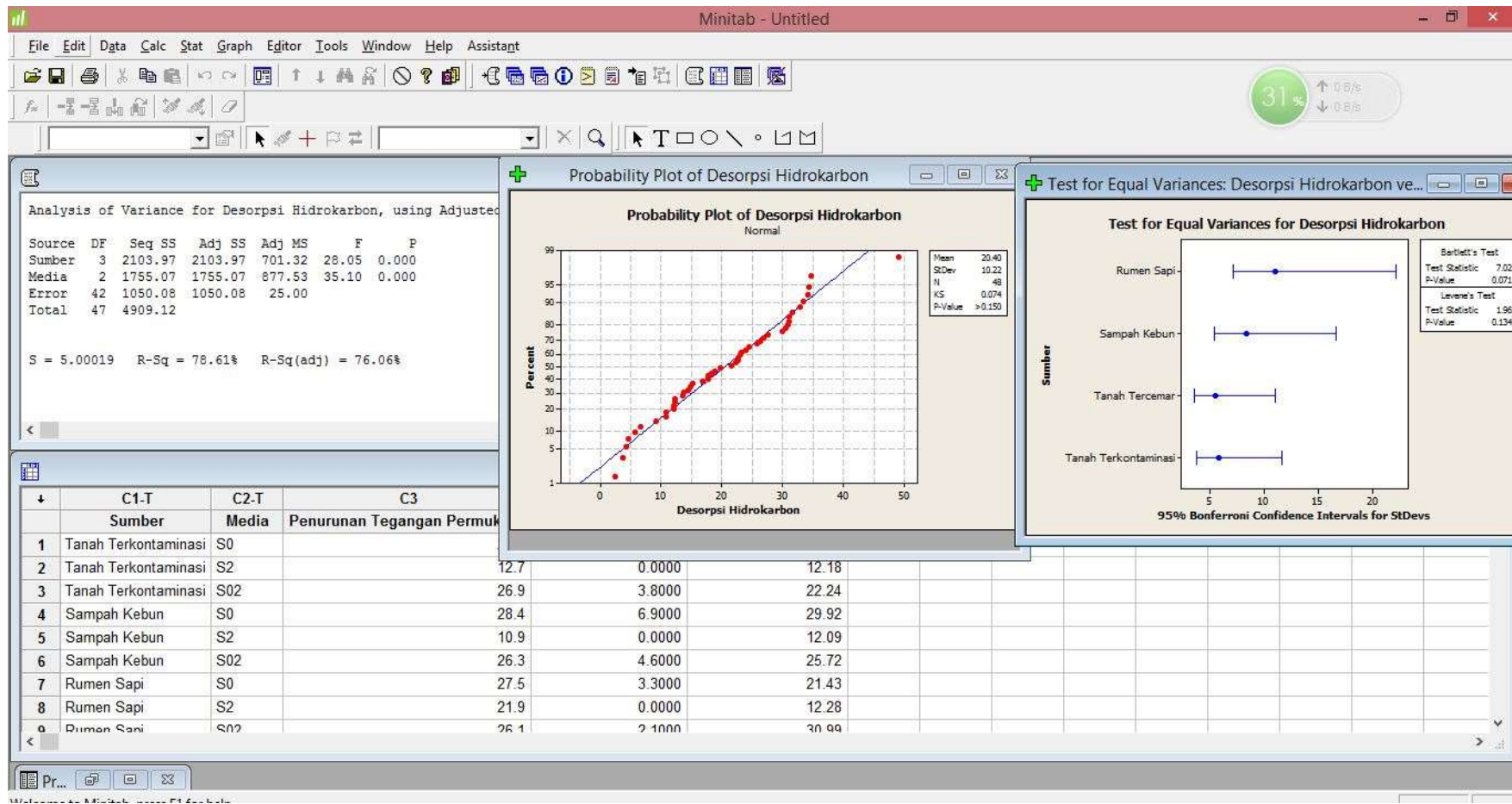
**Test for Equal Variances: Penurunan Tegangan...**

	C1-T	C2-T	C3			
	Sumber	Media	Penurunan Tegangan Pe			
1	Tanah Terkontaminasi	S0		29.4	4.1000	22.97
2	Tanah Terkontaminasi	S2		12.7	0.0000	12.18
3	Tanah Terkontaminasi	S02		26.9	3.8000	22.24
4	Sampah Kebun	S0		28.4	6.9000	29.92
5	Sampah Kebun	S2		10.9	0.0000	12.09
6	Sampah Kebun	S02		26.3	4.6000	25.72
7	Rumen Sapi	S0		27.5	3.3000	21.43
8	Rumen Sapi	S2		21.9	0.0000	12.28
9	Rumen Sapi	S02		26.1	2.1000	20.99

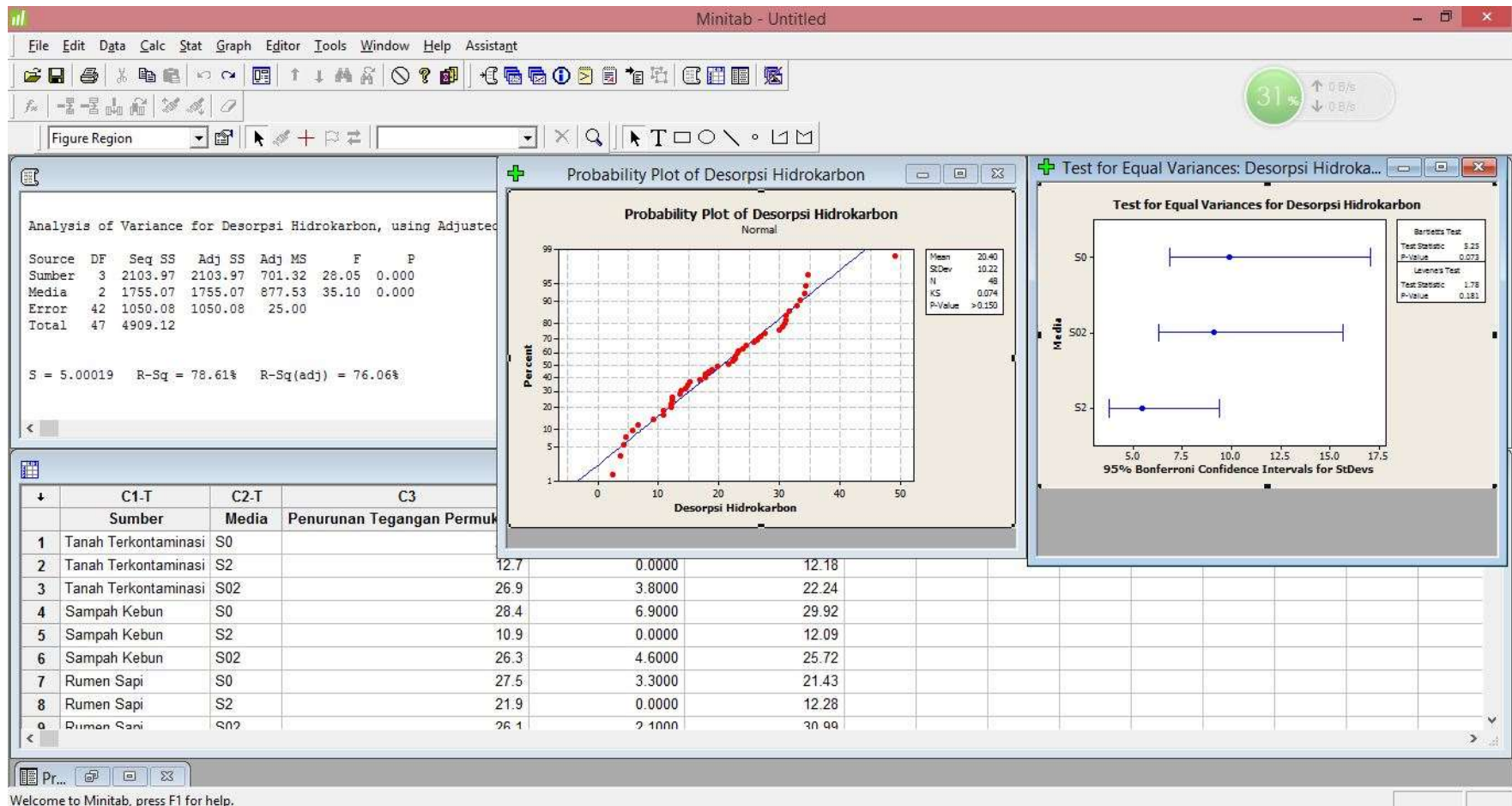
Welcome to Minitab, press F1 for help.











## BIODATA PENULIS



Suhendra Amka Putra, lahir di Banjarmasin pada 9 Oktober 1993 sebagai anak pertama dari Bapak Amberani dan Ibu Kartinah. Penulis menempuh pendidikan di SDN Karang Mekar 3 Banjarmasin (1999-2005), SMPN 3 Banjarmasin (2005-2008), dan SMAN 2 Banjarmasin (2008-2011). Penulis meraih gelar S-1 pada Jurusan Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Lingkungan, Universitas Lambung Mangkurat (2011-2015). Semasa perkuliahan S-1 penulis aktif mengikuti kegiatan kampus baik akademis dan non-akademis. Penulis aktif sebagai asisten dosen tugas besar. Penulis juga aktif dalam keanggotaan HIMATEKLINK dan sempat menjabat sebagai wakil ketua pada periode 2013-2014. Penulis juga aktif diberbagai kegiatan kampus seperti anggota divisi dana dan usaha pada acara hari bumi dan lingkungan 2013 dan sebagai wakil ketua acara *talkshow* dengan tema “*Waste Less Green Living More*” pada tahun 2014. Penulis melanjutkan jenjang pendidikan perguruan tinggi di program S-2 Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil, Lingkungan, dan Kebumihan, Institut Teknologi Sepuluh Nopember pada tahun 2015 dan tercatat sebagai mahasiswa dengan NRP. 3315201203. Segala bentuk komunikasi yang ingin dilakukan terkait tesis ini dapat melalui email: [suhendraamka@gmail.com](mailto:suhendraamka@gmail.com).

***HALAMAN INI SENGAJA DIKOSONGKAN***