

## APLIKASI MICRO MORR E-3360 SEBAGAI BAHAN BIOREMEDIAN TUMPAHAN MINYAK DI LAUT

### *Application of Micro Morr E-3360 as Bioremediation Material for Marine Oil Spill*

Endar Marraskuranto\*, Hedi Indra Januar, dan Asri Pratitis

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan,  
Balitbang KP, KKP. Jl. K.S. Tubun Petamburan VI, Jakarta Pusat 10260.

\* Korespondensi Penulis: endar\_115@yahoo.com

#### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menguji kelayakan Micro Morr E-3360 sebagai bahan bioremediasi tumpahan minyak di laut pada skala laboratorium. Kelayakan didasari pada efektivitas pengurangan kadar *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH), toksisitas air laut hasil bioremediasi dan residu media imobilisasi dari produk. Analisis kadar TPH dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan tingkat toksisitas diukur menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Identifikasi konsorsium bakteri dilakukan pada media imobilisasi dengan analisis sekuens gen 16S rDNA. Penelitian dilakukan dengan lima uji coba dalam beaker, yaitu air laut dan minyak 2% w/w dari air laut (M); air laut, minyak 2% w/w dari air laut, bioremediasi 10% w/w dari minyak, dan nutrisi (P); kontrol air laut (AL); kontrol air laut dan bioremediasi 10% w/w dari minyak (B); serta air laut dan nutrisi (K). Hasil analisis menunjukkan bahwa konsorsium bakteri terdiri dari 3 spesies bakteri, yaitu *Bacillus licheniformis*, *B. thermoamylovorans*, dan *Geobacillus pallidus*. Bioremediasi ini mampu menurunkan kadar TPH dalam air sebesar 77% dan tingkat toksisitas sebesar 88% selama 20 hari. Kadar residu minyak dalam media imobilisasi juga rendah, yaitu di bawah 2 ppm. Namun, penurunan kadar oksigen dan peningkatan turbiditas yang signifikan ( $P < 0,05$ ) dapat menjadi faktor utama kematian 50% populasi *A. salina*.

**KATA KUNCI:** micro morr E-3360, bioremediasi, uji BSLT, konsorsium bakteri

#### ABSTRACT

This research was aimed to test the feasibility of Micro Morr E-3360 as bioremediation material for marine oil spill at laboratory scale. Feasibility was based on its effectiveness to decrease Total Petroleum Hydrocarbon (TPH) content, toxicity of seawater sample after bioremediation and its immobilization media residue. TPH content analysis was conducted using UV-Vis spectrophotometry method and toxicity was measured using Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method. Identification of the bacterial consortium in the bioremediation media was conducted using 16 S rDNA gene sequencing analysis. Research was conducted in five experiments in beakers which are seawater and oil 2% (w/w) of seawater (M); seawater, oil 2% (w/w) of seawater, bioremediant 10% (w/w) of oil, and nutrient (P); seawater as control (AL); seawater and bioremediant 10% (w/w) of oil (B) and seawater and nutrient (K). Identification result showed that bacteria consortium consisted of three species, they were *Bacillus licheniformis*, *B. thermoamylovorans* and *Geobacillus pallidus*. Bioremediant was able to decrease TPH concentration in sea water by 77% and toxicity level by 88% in 20 days. Oil content in immobilization media residue was also low, that was 2 ppm. However, significant oxygen depletion and turbidity increment could be the principal factor causing 50% lethality of *A. salina* population.

**KEYWORDS:** micro morr E-3360, bioremediation, BSLT, bacterial consortium

#### PENDAHULUAN

Minyak, mentah maupun minyak olahan, yang tertumpah ke wilayah perairan merupakan polutan sangat berbahaya bagi keberlangsungan ekologis

biota perairan, terutama jika tumpahan minyak telah sampai ke wilayah terumbu karang. Kerusakan terumbu karang yang terjadi di Taman Nasional Laut Kepulauan Seribu, sebesar 40% diklaim terjadi sebagai akibat pencemaran minyak (Anon., 2004).

Upaya penanggulangan polusi tersebut di wilayah laut relatif lebih sulit jika dibandingkan dengan *oil waste treatment* yang berada di darat/tanah. Aplikasi bioremediasi di badan air yang merupakan medium bergerak memerlukan akurasi *modelling* yang tepat agar penyelesaiannya optimal. Salah satu cara penanggulangan tumpahnya minyak mentah adalah menggunakan metode bioremediasi yang memanfaatkan kemampuan mikroorganisme (bakteri dan/atau kapang) untuk mendegradasi residu tumpahan minyak.

Berdasarkan *environmental fate*, tumpahan minyak di ekosistem laut meliputi pemindahan dan perubahan berbagai senyawa minyak menjadi berbagai fase di permukaan, badan air hingga sedimentasi (Patin, 2009). Kandungan senyawa hidrokarbon dalam minyak hanya berkisar 1% saja, namun memiliki tingkat toksisitas terhadap ikan berkisar pada level antara 16–28 ppm (Anon., 2003). Bahan bioremediasi yang efektif mampu menurunkan kandungan komponen minyak di air hingga berada pada level tidak berbahaya bagi ikan dan biota laut lainnya.

Di laboratorium, pengujian cara cepat toksisitas paparan suatu bahan polutan terhadap lingkungan laut dapat dilakukan dengan menggunakan biota *brine shrimp* atau udang renek (Anon., 2003; George-Ares *et al.*, 2003). *United States-Environmental Protecting Agencies* (US-EPA) secara rutin mempergunakan *Artemia salina* sebagai biota indikator ekotoksitas tumpahan minyak selain crustacea dan ikan (Persoone & Wells, 1987). Sanchez *et al.* (1995) in Khairunnur *et al.* (2009) menerangkan bahwa *brine shrimp* (*A. salina*) merupakan invertebrata yang memiliki peran penting dalam aliran energi di rantai makanan ekosistem laut. Hal ini yang mendasari penggunaan *A. salina* dalam penelitian ini.

Pada prinsipnya, bioremediasi adalah penggunaan mikroorganisme yang telah dipilih untuk ditumbuhkan pada polutan tertentu untuk menurunkan kadar polutan tersebut. Enzim-enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme tersebut yang memegang peranan dalam memodifikasi struktur polutan beracun menjadi tidak kompleks sehingga menjadi metabolit yang tidak beracun dan tidak berbahaya (Priadie, 2012). Aplikasi bioremediasi dapat dilakukan dengan menggunakan bakteri *indigenous* dan bakteri komersial. Bakteri *indigenous* dapat diperoleh dengan melakukan isolasi bakteri dari tempat yang tercemar, sedangkan bakteri komersial (ataupun enzim) sudah mudah diperoleh di pasaran berkat perkembangan iptek bioremediasi (Priadie, 2012), di antaranya adalah Micro Morr-E3360, yang berupa konsorsium bakteri dalam inokulum (media imobilisasi) terapung di permukaan air laut

sehingga diharapkan dapat merombak tumpahan minyak dengan efektif. Namun dampak ekologis dan tingkat toksisitas bahan tersebut belum diketahui. Hal ini yang mendasari dilaksanakannya penelitian ini. Penelitian ini bertujuan memberikan gambaran kelayakan Micro Morr-E3360 sebagai bioremediasi, yang akan diverifikasi dari sisi efektivitasnya dalam menurunkan kadar minyak di laut dan ekotoksitas bagi biota laut.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Bahan yang digunakan antara lain air laut diperoleh dari Lembaga Oseanografi Nasional (LON) LIPI yang bersumber dari air laut Teluk Jakarta, produk bioremediasi komersial MM EM-3360 diperoleh dari Dr. Edison Effendi (Universitas Trisakti, Jakarta), minyak mentah diperoleh dari kilang minyak Balongan, Indramayu, Jawa Barat, dan urea serta NPK teknis diperoleh dari Toko Tanaman TRUBUS.

### Metode

#### Sterilisasi wadah dan media air laut

Pada tahap awal, agar penurunan tingkat *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH) hanya didasari oleh aktivitas biologis mikroba yang diujicobakan, maka wadah dan media air laut disterilisasi terlebih dahulu sebelum digunakan. Proses sterilisasi dilakukan dengan menggunakan *autoclave*. Wadah yang digunakan adalah *beaker glass* 2 L. Sedangkan media yang dipergunakan adalah air laut yang diambil dari kawasan Teluk Jakarta. Untuk persiapan sterilisasi, air laut terlebih dahulu disaring menggunakan penyaring bakteri 0,22 µm.

#### Identifikasi konsorsium bakteri pada bahan remediasi

Identifikasi dilakukan dengan uji biokimia, yaitu mengisolasi bakteri yang terkandung dalam inokulum (media imobilisasi) menggunakan media *lactose broth* (LB) dan diinkubasi pada suhu 55°C selama semalam. Media LB yang sudah ditumbuhi bakteri disuspensi pada media padat dengan pengenceran lalu diinkubasi pada suhu yang sama selama 24 jam. Koloni yang telah ditumbuhkan kemudian digoreskan pada media sampai mendapatkan isolasi murni. Isolat murni diekstraks DNA-nya untuk diidentifikasi dengan metode *16S rDNA-Based Analysis* menggunakan *polymerase chain reaction* (PCR) dan hasilnya dibandingkan dengan bank data. Viabilitas perkembangan isolat dalam lingkungan sebenarnya

dilakukan dengan menumbuhkan konsorsium bakteri dalam air laut dari Kepulauan Seribu, yaitu perairan Pulau Sebaru.

#### Rancangan percobaan dan parameter kimiawi air laut

Percobaan penurunan kadar cemaran minyak dalam air laut dilakukan secara simulasi dalam penampang beaker glass 2 L yang diaerasi secara terus menerus selama penelitian berlangsung. Masing-masing penampang berisikan variasi antara air laut, cemaran minyak 2%, dan nutrisi pertumbuhan bakteri konsorsium, untuk mengetahui efektivitas kinerja dari konsorsium minyak dalam menurunkan kadar cemaran minyak. Tiap perlakuan masing-masing dibuat dengan ulangan sebanyak tiga kali, dengan kode tiap perlakuan adalah M, P, AL, K, dan B, yang merupakan:

- M : Air laut 2 L dan minyak 2% w/w dari air laut.
- P : Air laut 2 L, minyak 2% w/w dari air laut, bahan bioremediasi 10% w/w dari minyak, serta nutrisi urea NPK yang beratnya sebanyak 45% dan 15% w/w dari bahan bioremediasi.
- AL : Kontrol Air laut 2 L
- K : Kontrol air laut 2 L dan nutrisi Urea-NPK dengan jumlah yang sama seperti perlakuan (P)
- B : Air laut dan bahan bioremediasi dengan jumlah yang sama seperti perlakuan (P)

Konsentrasi bahan bioremediasi yang dipergunakan tersebut (10% w/w dari minyak) dibuat sesuai dengan petunjuk yang terdapat pada bahan bioremediasi. Setiap lima hari sekali selama 20 hari dilakukan pengambilan air dari *beaker glass* sebanyak masing-masing 50 ml dari bagian permukaan (a), tengah (t), dan dasar (b) *beaker glass* untuk uji toksisitas (10 ml) dan efektivitas pengurangan kadar hidrokarbon dalam minyak (10 ml), serta 1 mg minyak di permukaan. Berdasarkan kombinasi antara perlakuan dan titik pengambilan tersebut, maka sampel yang dianalisis diberi kode sebagai:

- MA (bagian permukaan perlakuan M);
- MT (bagian tengah perlakuan M);
- MB (bagian dasar perlakuan M);
- PA (bagian permukaan perlakuan P);
- PT (bagian tengah perlakuan P);
- PB (bagian dasar perlakuan P);
- AL (kontrol air laut saja);
- K (kontrol nutrisi); dan
- B (kontrol bioremediasi).

Analisis parameter kualitas air yang meliputi kadar karbon terlarut (TOC), kadar fosfat (P), dan nitrogen anorganik (jumlah amonia, nitrat, dan nitrit) dilakukan menggunakan kolorimeter Hach DR-890.

#### Tingkat toksisitas perlakuan bioremediasi terhadap udang renek

Penentuan toksisitas hasil perlakuan bioremediasi terhadap udang renek dilakukan berdasarkan metode Persoone & Wells (1987) terhadap air laut dan padatan residu bioremediasi. Penentuan toksisitas diketahui dari nilai persentase kematian udang renek yang dilakukan dengan menghitung jumlah udang renek yang mati selama ditumbuhkan dalam air sampel dari setiap perlakuan selama 24 jam.

#### Tingkat efektivitas bahan bioremediasi

Pengkajian tingkat efektivitas pemecahan hidrokarbon dan residunya dilakukan dalam waktu yang sama dengan bagian sebelumnya, yaitu lima hari sekali selama 20 hari. Analisis *Total Petroleum Hydrocarbons* (TPH) dalam media air laut dan padatan residu dilakukan menggunakan metode spektrofotometri visibel. Pada tahap awal, dilarutkan 1 mg minyak mentah dalam 10 ml n-heksana untuk membuat kurva standar absorbansi sinar visibel maksimum terhadap konsentrasi TPH. Deret konsentrasi TPH yang dipilih adalah 3,125 ppm hingga 50 ppm dengan panjang gelombang 340 nm berdasarkan Deshpande *et al.* (2005). Setiap 5 hari, 10 ml sampel cair dan 1 mg padatan diekstrak dengan 10 ml n-heksana untuk mengetahui penurunan TPH akibat penambahan bahan bioremediasi.

#### Pengolahan Data Hasil

Pengolahan data meliputi korelasi antara variabel dependen kematian *A. salina* terhadap variabel independen parameter kimia air laut dalam wadah uji. Pengujian dilakukan secara parametrik menggunakan regresi keseluruhan (*enter*) dan bertingkat (*stepwise*).

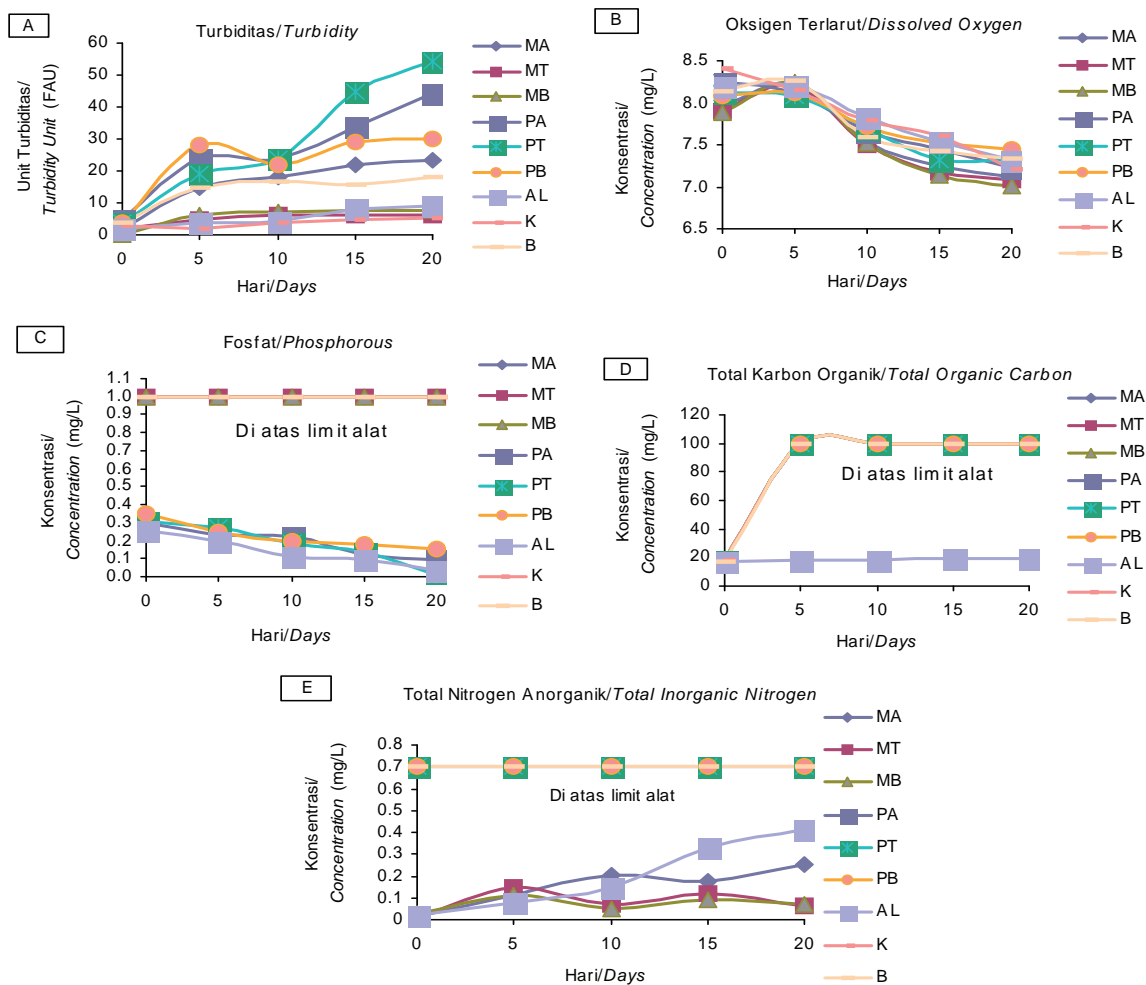
## HASIL DAN BAHASAN

Hasil identifikasi konsorsium bakteri telah selesai dilaksanakan dan mendapatkan hasil yang sangat baik, yaitu memiliki kesamaan/kemiripan sebesar 99% terhadap data yang ada di dalam bank data. Jenis-jenis bakteri tersebut terdapat pada Tabel 1.

Genus *Bacillus* merupakan golongan bakteri yang telah banyak dipublikasikan yang memiliki kemampuan untuk mendegradasi minyak mentah maupun minyak olahan. Hal yang menarik dalam konsorsium adalah terdapatnya jenis *Geobacillus* yang merupakan jenis bakteri termofilik baru yang diketahui memiliki aktivitas degradator minyak. Zheng *et al.* (2011) mengungkapkan dua strain XS2 dan XS3, yang memiliki homolog 100% dengan *Geobacillus pallidus*, diisolasi dari tanah yang tercemar minyak

Tabel 1. Spesies bakteri pada produk konsorsium bakteri bioremediasi  
 Table 1. Bacterium species in bioremediation bacteria consortium

Kode/ Code	Spesies/Species	Kode Akses Bank Data/ Data Bank Access Code	Persentase Similaritas/ Similarity Percentage
1	<i>Bacillus licheniformis</i>	FN556452.1	99
2	<i>Bacillus thermoamylovorans</i>	AB360824.1	99
3	<i>Geobacillus pallidus</i>	AB543491.1	99



Keterangan/Note:

M (Air laut dan minyak 2% w/w air laut);  
 M (seawater and oil 2% (w/w) of seawater);  
 P (air laut, minyak 2% w/w dari air laut, bioremediasi 10% w/w dari minyak, dan nutrisi);  
 P (seawater, oil 2% (w/w) of seawater, bioremediant 10% (w/w) of oil and nutrient);  
 MA (bagian permukaan perlakuan M);  
 MA (surface section for treatment M);  
 MT (bagian tengah perlakuan M);  
 MT (middle section for treatment M);  
 MB (bagian dasar perlakuan M);  
 MB (bottom section for treatment M);

PA (bagian permukaan perlakuan P);  
 PA (surface section for treatment P);  
 PT (bagian tengah perlakuan P);  
 PT (middle section for treatment P);  
 PB (bagian dasar perlakuan P);  
 PB (bottom section for treatment P);  
 AL (kontrol air laut);  
 AL (control seawater);  
 K (kontrol nutrisi); dan  
 K (control nutrient); and  
 B (kontrol bioremediasi);  
 B (control of bioremediant)

Gambar 1. Grafik perubahan turbiditas (A), oksigen terlarut (B), fosfat (C), TOC (D), dan nitrogen (E) selama 20 hari.

Figure 1. Graphics of turbidity (A), DO (B), phosphate (C), TOC (D) and nitrogen (E) changes for 20 days.

di kilang minyak Yumen, Cina, dan ditumbuhkan pada media yang mengandung Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) dan minyak mentah. Berdasarkan perlakuan tersebut, kedua strain menunjukkan aktivitasnya yang mampu mendegradasi senyawa hidrokarbon dan menghasilkan *bioemulsifier* yang terdiri dari kompleks karbohidrat, lipid, dan protein. Isolat ST3, yang teridentifikasi sebagai *Bacillus pallidus*, diketahui mampu mendegradasi isopropil alkohol atau 2-propanol (IPA) hingga 24 g/l. Dalam hal ini, IPA dimanfaatkan sebagai satu-satunya sumber karbon oleh strain tersebut di dalam media miskin garam (Bustard *et al.*, 2002).

Secara visual terlihat terjadinya emulsifikasi dan agregatasi di permukaan yang diikuti dengan pelarutan bahan polar ke air laut percobaan sewaktu minyak dicampurkan ke dalam wadah uji. Dapat diduga bahwa cepatnya agregat yang terbentuk diakibatkan suhu ruang percobaan yang rendah, yaitu 25°C. Hasil analisis parameter kimiawi terdapat pada grafik dalam Gambar 1.

Analisis titik 0 dimulai 2 jam setelah penambahan minyak, yaitu setelah agregat minyak terbentuk. Kandungan DO dipertahankan dengan aerator untuk memenuhi kebutuhan oksigen konsorsium bakteri aerobik dalam merombak minyak. Namun penurunan kadar DO tetap terjadi, kondisi ini menunjukkan peningkatan aktivitas mikroba dalam merombak minyak. Hal yang sama juga terjadi pada kontrol, masing-masing air laut, nutrisi, dan bahan bioremediasi, yang diduga diakibatkan oleh pengayaan bakteri kontaminan, yang sulit dihindari karena sistem wadah yang terbuka. Selain itu, efek penambahan bioremediasi ternyata secara visual meningkatkan kekeruhan.

Peningkatan kekeruhan, terutama pada perlakuan yang ditambahkan bahan bioremediasi, kemungkinan besar diakibatkan oleh peningkatan karbon terlarut dalam air hasil aktivitas bakteri dalam menguraikan rantai karbon dalam minyak mentah menjadi bentuk karbon inorganik dan terlepas ke udara. Inokulum konsorsium bakteri berupa kapas berwarna coklat, yang dapat menjadi sumber turbiditas karena teraduk oleh aerator di dalam wadah *beaker glass* percobaan. Hal ini memperlihatkan kelemahan aplikasi bahan bioremediasi yang diuji, karena jika diaplikasikan pada wilayah terumbu karang, media kapas yang turun dan mengendap dapat menutupi wilayah terumbu karang sehingga menutupi kebutuhan karang akan sinar matahari.

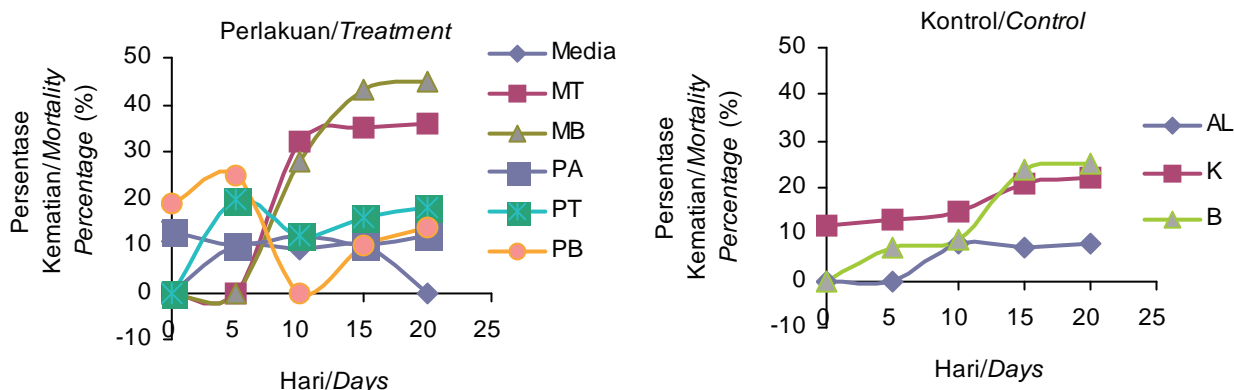
Kandungan kadar TOC yang tinggi pada setiap perlakuan dan kontrol yang hanya ditambahkan nutrisi menunjukkan peningkatan karbon organik yang dirombak dari bentuk minyak (Gambar 1 (D)). Selain

itu, secara keseluruhan hasil analisis P dan N berada di atas limit alat. Hal ini dapat diduga karena penambahan nutrisi hasil rekomendasi produsen bioremediasi berlebih dan mengakibatkan terjadinya eutrofikasi. Jika diaplikasikan pada kondisi sesungguhnya di laut, maka HAB (*harmful algal bloom*) dapat terjadi dan menimbulkan kerentanan akumulasi biotoksin pada biota laut. Oleh karena itu, penambahan nutrisi harus dilakukan dengan tepat sesuai dengan kondisi air laut dan kebutuhan mikroba bioremediasi yang akan diaplikasikan.

Hasil uji toksisitas terhadap *brine shrimp* terdapat pada Gambar 2 yang memperlihatkan kemampuan inokulum bakteri bioremediasi dalam mengurangi toksisitas bahan. Jika dirata-ratakan dari tiga titik (air pada bagian permukaan, tengah, dan bawah), maka penambahan bioremediasi telah mengurangi toksisitas pada wadah uji sebesar 88%.

Pada Gambar 2, perlakuan M memperlihatkan kecenderungan toksisitas yang terus meningkat. Peningkatan diduga karena dalam keadaan tanpa bioremediasi, peningkatan kandungan senyawa hidrokarbon dari minyak terus meningkat hingga mencapai titik kesetimbangan dalam fase air yang ditandai dengan penurunan slope mulai hari ke-10. Pada perlakuan P, sisi permukaan air yang memiliki kontak dengan agregat dan emulsi minyak memiliki tingkat toksisitas yang cenderung stasioner. Namun pada bagian tengah dan dasar, terjadi fluktuasi. Pada hari ke-5 hingga ke-10, persentase kematian menunjukkan kecenderungan menurun, namun setelah itu terjadi peningkatan kembali mulai hari ke-10 hingga hari ke-20.

Jika hal tersebut hanya berhubungan dengan peningkatan jumlah minyak terlarut dalam air, maka ini berhubungan dengan pertumbuhan bakteri. Pada pengamatan hari ke-0 hingga ke-5 diperkirakan terjadi fase *lag* dari bakteri bioremediasi, sehingga jumlah minyak terlarut dan kematian *A. salina* meningkat. Selanjutnya, pada pengamatan hari ke-5 hingga ke-10 terjadi fase *log*, sehingga jumlah minyak terlarut dan *A. salina* menurun. Pada pengamatan hari ke-10 hingga ke-20 terjadi fase stasioner atau bahkan lisis bakteri bioremediasi. Jika minyak larut dalam air laut dan belum mencapai kesetimbangan, maka persentase kematian *A. salina* meningkat kembali. Hasil analisis terhadap padatan bioremediasi menunjukkan bahwa terjadi sedikit peningkatan kematian *A. salina* selama perlakuan. Namun dalam selang 20 hari, tingkat toksisitasnya kembali seperti semula sebelum perlakuan. Selain itu, kecenderungan peningkatan toksisitas pada kontrol, yaitu K (air laut dan nutrisi), B (air laut, nutrisi, dan bahan bioremediasi), dan AL (air laut kontrol), memunculkan dugaan baru bahwa variabel kematian *A. salina* tidak



Keterangan/Note:

M (Air laut dan minyak 2% w/w air laut);  
M (seawater and oil 2% (w/w) of seawater);  
P (air laut, minyak 2% w/w dari air laut, bioremediasi 10% w/w dari minyak, dan nutrisi);  
P (seawater, oil 2% (w/w) of seawater, bioremediant 10% (w/w) of oil and nutrient);  
MA (bagian permukaan perlakuan M);  
MA (surface section for treatment M);  
MT (bagian tengah perlakuan M);  
MT (middle section for treatment M);  
MB (bagian dasar perlakuan M);  
MB (bottom section for treatment M);

PA (bagian permukaan perlakuan P);  
PA (surface section for treatment P);  
PT (bagian tengah perlakuan P);  
PT (middle section for treatment P);  
PB (bagian dasar perlakuan P);  
PB (bottom section for treatment P);  
AL (kontrol air laut);  
AL (control seawater);  
K (kontrol nutrisi); dan  
K (control nutrient); and  
B (kontrol bioremediasi)  
B (control of bioremediant)

Gambar 2. Grafik persentase kematian *A. salina*.  
Figure 2. Graphic of *A. salina* mortality percentage.

hanya karena kadar minyak terlarut. Kadar minyak terlarut dihitung melalui analisis kandungan TPH (Total Petroleum Hydrocarbon) yang terdapat pada Gambar 3.

Kecenderungan yang sama pada kematian *A. salina* juga terlihat pada perlakuan P dan M, yaitu kadar minyak untuk MA, MT, dan MB terlihat meningkat dengan pertambahan hari. Sementara pada perlakuan P dan ekstrak padatan bioremediasi terjadi penurunan kandungan TPH. Jika antara perlakuan M dan P dibuat rata-rata, maka penambahan bioremediasi telah mengurangi kandungan minyak terlarut di air wadah percobaan sebesar 77,7% selama 20 hari. Hal ini selaras dengan penurunan toksisitas terhadap *A. salina* yang terhitung sebelumnya sebesar 88%. Sesuai dengan uji toksisitas, keberadaan minyak dalam sekam juga rendah, yaitu hanya sebatas rata-rata perlakuan kontrol.

Penurunan jumlah minyak terlarut dalam air, sesuai dengan hasil uji toksisitas, terjadi pada hari ke-5 hingga ke-10. Hal ini membuktikan dugaan bahwa pada kurun waktu tersebut terjadi fase *log* dari pertumbuhan bakteri bioremediasi sehingga laju reaksi pemecahan minyak terlarut lebih besar dibandingkan dengan laju kelarutan senyawa polar dalam agregat minyak di permukaan air ke dalam kolom air dalam

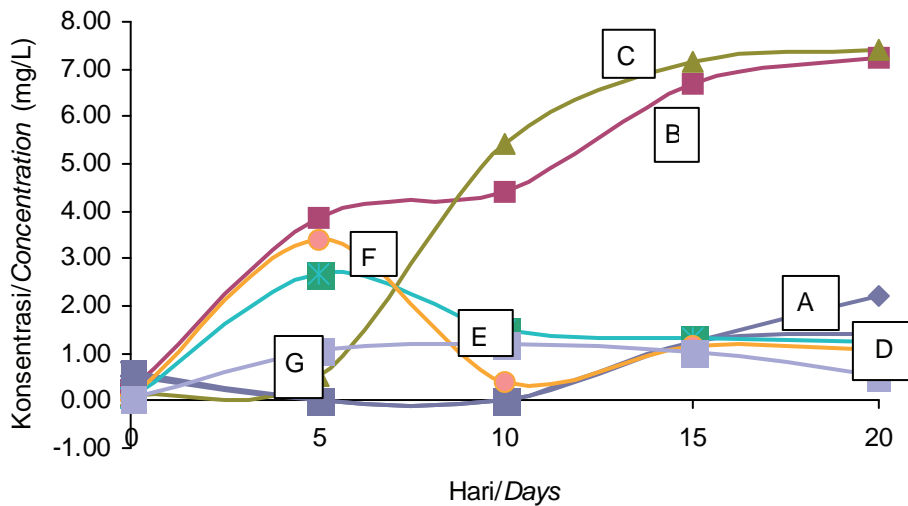
wadah uji. Namun setelah hari ke-10, gradien yang landai dari kandungan minyak di bagian permukaan, tengah, maupun dasar, diperkirakan terjadi akibat fase statis atau lisis pertumbuhan bakteri sehingga laju pemecahan minyak menurun.

Kadar minyak dalam air laut, setelah hari ke-10 dalam perlakuan penambahan bioremediasi, menunjukkan kecenderungan statis namun toksisitasnya menunjukkan kecenderungan meningkat. Hal ini memperkuat dugaan bahwa kematian *A. salina* tidak hanya disebabkan kadar minyak terlarut, namun juga disebabkan oleh variabel yang lain.

#### Korelasi Penambahan Bioremediasi pada Toksisitas Air Laut terhadap *A. salina*

Hasil analisis korelasi *Spearman* menunjukkan bahwa secara individual, variabel yang berkorelasi kuat secara signifikan terhadap kematian *A. salina* adalah kadar minyak dan oksigen terlarut. Hubungan antara kematian *A. salina* dan kadar minyak menunjukkan korelasi positif sedangkan terhadap oksigen terlarut berkorelasi negatif.

Untuk mengetahui koefisien determinasi dari hasil analisis, dilakukan analisis regresi. Hal ini dilakukan



Keterangan/Note:

M=Air laut dan minyak 2% w/w air laut;  
M=seawater and oil 2% (w/w) of seawater;  
P=air laut, minyak 2% w/w dari air laut, bioremediasi 10% w/w dari minyak, dan nutrisi;  
P=seawater, oil 2% (w/w) of seawater, bioremediant 10% (w/w) of oil, and nutrient;  
A= MA (bagian permukaan perlakuan M)/  
MA (surface section for treatment M);  
B = MT (bagian tengah perlakuan M)/  
MT (middle section for treatment M);

C =MB (bagian dasar perlakuan M)/  
MB (bottom section for treatment M);  
D =PA (bagian permukaan perlakuan P)/  
PA (surface section for treatment P);  
E =PT (bagian tengah perlakuan P)/  
PT (middle section for treatment P);  
F =PB (bagian dasar perlakuan P)/  
PB (bottom section for treatment P);  
G =Ekstrak 5 g padatan bioremediasi dalam 10 mL n-heksana/  
Extract of 5 g-bioremediant residue in 10 mL n-hexane

Gambar 3. Penurunan kandungan TPH pada minyak, bahan bioremediasi, dan ekstrak padatnya.  
Figure 3. TPH content decline in oil, bioremediation material, and its extract.

untuk mengetahui sejauh mana variasi dependen kematian *A. salina* dapat diprediksi dari variabel independen yang diuji. Uji regresi menunjukkan bahwa kadar kelarutan minyak dalam wadah uji tidak secara signifikan ( $P > 0,05$ ) berperan sebagai prediktor kematian *A. salina*. Hal ini memperkuat dugaan bahwa produk Micro Morr E-3360 telah secara efektif mengurangi kandungan berbahaya dalam minyak sehingga kadar minyak tidak secara signifikan berperan dalam kematian *A. salina*. Variabel yang berpengaruh adalah kadar oksigen terlarut dan turbiditas dengan model matematis:

$$\text{Kematian } A. \text{ salina} = 2.208 - 0,335[\text{DO}] - 0,005 [\text{turbiditas}] \dots(R^2 = 0,532)$$

Hasil ini menunjukkan bahwa 53,2% kematian *A. salina* disebabkan oleh perubahan oksigen terlarut dan interaksinya dengan kenaikan turbiditas. Kurva ini layak karena hasil uji residu regresinya tidak berbeda secara signifikan terhadap kurva normal, yang merupakan syarat validitas persamaan regresi (Anon., 2006). Koefisien determinasi 53,2%, jika ditinjau dari analisis kimiawi adalah sangat rendah, namun pada

uji biologis, determinasi yang tepat berkorelasi (di atas 95%) sangat jarang terjadi karena banyak faktor yang mungkin tidak terkontrol dan mempengaruhi variasi antar organisme yang di uji (Fowler & Cohen, 1992). Oleh karena itu, uji regresi variabel biologis secara umum dilakukan untuk mengetahui seberapa jauh variabel dependen dapat diprediksi dari variabel independen yang diuji serta seberapa besar variabilitas dalam pengujian.

Dengan demikian, jika didasarkan pada nilai  $R^2$ , diketahui bahwa penelitian ini baru mampu mengetahui prediktor yang dapat memprediksi penyebab kematian 50% populasi *A. salina*. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat variabilitas lain pada kematian *A. salina* yang tidak termasuk dalam persamaan regresi, misalnya dapat diduga karena kerapatan dan hasil sekresi metabolit dari bakteri lain yang juga berkembang. Dugaan ini terjadi karena seperti yang terlihat pada perlakuan kontrol yang juga menyebabkan *A. salina* mati. Faktor lainnya seperti kejenuhan kandungan nutrisi yang tidak dapat teruji karena mencapai limit deteksi alat, maupun faktor ketidakpastian dan galat selama percobaan. Namun, penyebab kematian 50%

populasi *A. salina* dapat diprediksi, maka dapat diasumsikan bahwa antaraksi independen dapat menjadi komponen utama prediktor dependen pada kematian *A. salina*.

Oleh karena itu, berdasarkan analisis ini, dapat diketahui bahwa kandungan minyak yang terlarut dalam air selama percobaan secara tidak langsung membunuh *A. salina*. Namun, kematian 50% populasi *A. salina* dapat diakibatkan oleh antaraksi dari peningkatan turbiditas akibat keberadaan sekam atau kerapatan bakteri dengan aktivitas bakteri bioremediasi maupun bakteri lainnya secara aerobik di dalam wadah uji yang menurunkan kadar oksigen, sehingga membuat air laut dalam wadah uji menjadi tidak optimal bagi kehidupan *A. salina*.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengujian maka dapat disimpulkan bahwa bahan bioremediasi Micro Morr-E3360 efektif dalam merombak cemaran minyak menjadi bahan-bahan tidak berbahaya bagi *A. salina* dalam skala laboratorium. Namun, permasalahan yang dapat terjadi dari aplikasi bioremediasi ini adalah peningkatan turbiditas dan kadar nutrisi yang berlebih jika sesuai petunjuk penggunaan bioremediasi. Oleh karena itu, walaupun Micro Morr-E3360 memiliki aktivitas yang sangat baik, namun untuk diaplikasikan saat ini sebagai produk bioremediasi dalam penanganan kasus tumpahan minyak di laut terdapat hal-hal yang harus diteliti lebih lanjut agar tidak menimbulkan permasalahan baru terhadap lingkungan laut.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kukuh Adyana dari Pusat Pengkajian dan Perekayasa Teknologi Kelautan dan Perikanan untuk penyediaan minyak mentah yang diuji cobakan, serta Dr. Edison Effendi atas pengadaan bahan bioremediasi Micro Morr E-3360 yang diuji serta rekomendasi penambahan nutrisi yang dipergunakan di dalam penelitian ini, dan Gintung Patantis untuk bantuan analisis pada

identifikasi konsorsium bakteri pada media imobilisasi bahan bioremediasi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2003. *Robust Summary of Information on Crude Oil (CAS Number 8002-05-9)*. American Petroleum Institute.
- Anonim. 2004. Tumpahan minyak terusancam Kepulauan Seribu. *Republika*. 10-November-2004.
- Anonim. 2006. *Help on SPSS Ver. 15*. SPSS Inc.
- Bustard, M.T., Whiting, S., Cowan, D. A., and Wright, P. C. 2002. Biodegradation of high-concentration isopropanol by a solvent-tolerant thermophile, *Bacillus pallidus*. *Extremophiles*. 6: 319–323.
- Deshpande, N., Chandrasekar, S., Sorial, G.A., and Weaver, J.W. 2005. *Dispersant Effectiveness on Oil Spills - Impact of Environmental Factors*. 2005 Annual Science Conference, International Council for the Exploration of the Sea, Aberdeen, Scotland.
- Fowler, J. and Cohen, L. 1992. *Practical Statistics for Field Biology*. John Wiley and Sons, Chichester, New York, Brisbane, Toronto. 227 pp.
- George-Ares, A., Febbo, E.J., Letinski, D.J., Yarusinsky, J., Safadi, R.S., and Aita, A.F. 2003. Use of brine shrimp (*A. salina*) in dispersant toxicity tests- some caveats. *Proceedings of the 2003 International Oil Spill*.
- Khairunnuur, F.A., Zulkhairi, A., Azrina, A., Moklas, M.A.M., Khairullizam, S., Zamree, M.S., dan Shahidan, M.A. 2009. Nutritional composition, in vitro antioxidant activity and *A. salina* L. lethality of pulp and seed of Tamarindus indica L. extracts. *Mal J Nutr*. 15(1): 65–75.
- Priadie, B. 2012. Teknik bioremediasi sebagai alternatif upaya pengendalian pencemaran air. *J. Ilmu Lingkungan*. 10(1): 135–145.
- Patin, S. 2009. *Environmental Impact of The Offshore and Gas Industry*, Ecomonitoring Publishing, USA.
- Persoone, G. dan Wells, P.G. 1987. *A. salina* in aquatic toxicology: a review. In Sargeloos, P., Bengson, D.A., Declair, W., dan Jaspers, E. (eds). *A. salina research and Its Application. Vol 1: Morphology, Genetics, Strain Characteristics, Toxicology*. Universa Press, Weneren, Belgium.
- Zheng, C., He, J., Wang, Y., Wang, M., and Huang, Z. 2011. Hydrocarbon degradation and bioemulsifier production by thermophilic *Geobacillus pallidus* strains. *Bioresource Technology*. 102: 9155–9161.