

Telaah Mendalam tentang **Bioremediasi:**

*Teori dan Aplikasinya dalam Upaya
Konservasi Tanah dan Air*



Telaah Mendalam tentang **Bioremediasi:**

*Teori dan Aplikasinya dalam Upaya
Konservasi Tanah dan Air*

**Asep Hidayat
Chairil Anwar Siregar**



Penerbit IPB Press

IPB Science Techno Park,
Kota Bogor - Indonesia

C.1/04.2017

Judul Buku:

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:
Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

Penulis:

Asep Hidayat
Chairil Anwar Siregar

Editor:

Robi Deslia Waldi

Desain Sampul dan Penata Isi:

Ardhya Pratama
Muhamad Ade Nurdiansyah

Jumlah Halaman:

124 + 18 halaman romawi

Edisi/Cetakan:

Cetakan 1, Februari 2017

PT Penerbit IPB Press

Anggota IKAPI
IPB Science Techno Park
Jl. Taman Kencana No. 3, Bogor 16128
Telp. 0251 - 8355 158 E-mail: ipbpress@ymail.com

ISBN: 978-602-440-095-8

Dicetak oleh Percetakan IPB, Bogor - Indonesia
Isi di Luar Tanggung Jawab Percetakan

© 2017, HAK CIPTA DILINDUNGI OLEH UNDANG-UNDANG

Dilarang mengutip atau memperbanyak sebagian atau seluruh
isi buku tanpa izin tertulis dari penerbit

KATA PENGANTAR

Lingkungan adalah tempat tumbuh yang baik bagi seluruh makhluk hidup, karena disitu tersedia sumberdaya alam yang dibutuhkan bagi kehidupan. Setiap makhluk hidup termasuk manusia didalamnya memiliki hak untuk hidup dalam lingkungan yang sehat dan aman. Namun hak dan kewajiban manusia atas lingkungan terasa tidak seimbang. Kewajiban untuk menjaga dan melestarikan jauh lebih kecil dibandingkan dengan haknya dalam pemanfaatan. Akibatnya kerusakan lingkungan telah nyata-nyata terjadi, hutan sebagai penyerap karbon dioksida (CO_2), penghasil oksigen (O_2) terancam keberadaanya, air yang kita butuhkan tercemar, udara pun terpapar asap berbahaya. Lebih miris lagi: ikan, madu, dan air susu ibu (ASI) yang seharusnya menjadi sumber makanan yang menyehatkan, terdeteksi mengandung senyawa berbahaya. Oleh karena itu, perlu usaha dan kerja keras semua pihak untuk menjaga dan melakukan pemulihan lingkungan.

Lingkungan yang terkontaminasi oleh senyawa organik berbahaya, misalnya minyak mentah, berdasarkan Keputusan Menteri Lingkungan Hidup (LH) No. 128 Tahun 2003, harus dipulihkan secara biologis. Langkah ini diambil karena minyak mentah memiliki karakteristik dan sifat yang khusus. Pemulihan lingkungan tercemar secara biologis atau dikenal dengan istilah bioremediasi sebenarnya tidak terbatas untuk lingkungan tercemar oleh minyak mentah saja. Bioremediasi memiliki makna yang sangat luas dalam arti pemulihan lingkungan tercemar dengan melibatkan mikroba. Secara keilmuan dan berdasarkan pada beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa mikroba mampu mengurai limbah berbahaya dalam rentang kelompok senyawa berbahaya yang luas, termasuk zat pewarna, senyawa berklorinasi, dan logam berat. Sekarang ini, bioremediasi menjadi metode pemulihan lingkungan tercemar yang paling banyak diterima

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

masyarakat pencinta lingkungan karena aplikasinya yang mudah, murah, dan ramah lingkungan. Prosesnya pun terjadi dalam arti yang sesungguhnya. Limbah organik berbahaya dikonversi menjadi CO₂ dan H₂O sebagai proses akhir. Mikroba pengurai pun akan mati ketika limbah habis terurai. Namun aplikasi bioremediasi tidak semudah apa yang dibayangkan karena mikroba yang berperan didalamnya adalah benda hidup. Banyak faktor, baik internal maupun eksternal yang perlu diperhatikan agar proses bioremediasi berjalan dengan baik dan sempurna sesuai dengan yang diharapkan.

Saya selaku Kepala Badan Penelitian, Pengembangan dan Inovasi Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan menyambut baik buku berjudul "Telaah Mendalam tentang Bioremediasi: Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air". Saya berkeyakinan isi buku ini akan memberikan pemahaman dan pengetahuan baru tentang teori, arti penting, dan status riset bioremediasi. Intinya, mikroba adalah kunci keberhasilan proses bioremediasi itu. Lebih jauh, fakta-fakta yang diangkat dalam buku ini semoga dapat dijadikan landasan berpijak oleh berbagai pihak, baik pemerintah sebagai pemegang kebijakan, swasta sebagai operator, perguruan tinggi sebagai lembaga pendidik tertinggi generasi penerus bangsa, dan masyarakat luas yang juga memiliki kewajiban menjaga serta melestarikan lingkungan.

Sebagai akhir kata, tidak lupa saya mengucapkan banyak terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada penulis yang telah mencurahkan tenaga, pikirannya serta berbagai pihak yang telah membantu dalam penyusunan, penyuntingan, dan penerbitan buku ini. Usaha dan jerih payah kita semua adalah bagian dari upaya menjaga dan melestarikan lingkungan dari keterancaman. Apabila tidak oleh kita, oleh siapa lagi, dan jika tidak sekarang, kapan lagi. Maka mulai dari sekarang, mari kita membiasakan diri dan belajar menjaga dan melestarikan lingkungan, meski dimulai dari hal-hal yang kecil.

Dr. Henry Bastaman, M.ES

Kepala Badan Penelitian, Pengembangan, dan Inovasi
Kementerian Lingkungan Hidup & Kehutanan

KATA SAMBUTAN

Sumberdaya hayati yang dimiliki Indonesia sangat tinggi sehingga tidak mengherankan jika Indonesia disebut sebagai *megabiodiversity country*. Hutan Tropis Indonesia adalah pusat keanekaragaman hayati dunia dan menjadi unik karena Kawasan Indonesia mencakup *Sundaland* dan *Wallaceae*. Hutan tersebut memiliki manfaat yang besar, lebih dari 95% manfaatnya berasal dari hasil hutan bukan kayu (obat, fauna, mikroba, dan jasa lingkungan). Dengan sentuhan bioteknologi, mikroba dapat dimanfaatkan dalam arti yang luas, seperti sebagai sumber makanan (yogurt dan keju), kesehatan (antibiotik, anti kanker, kosmetik, dan obat-obatan lainnya), pertanian dan kehutanan (mikoriza), serta permasalahan lingkungan tercemar (bioremediasi).

Banyak yang berpendapat bahwa pemulihan lingkungan tercemar dapat didekati melalui cara biologis. Pendapat ini didukung hasil penelitian Gayle tahun 1952 yang menyimpulkan bahwa ketika senyawa organik berbahaya berada di lingkungan, maka akan ada mikroba yang mampu menguraikan secara sempurna ke ambang yang tepat (tidak mencemari). Berpijak dari konsep ini maka pemulihan lingkungan tercemar secara biologis atau bioremediasi, muncul menjadi metode yang paling banyak diterima oleh masyarakat luas karena murah dan ramah lingkungan. Berita ini menjadi kabar yang menggembirakan kita semua, di tengah-tengah lingkungan (darat, laut, air, dan udara) yang terus mengalami keterancaman berupa penurunan fungsi dan kualitasnya. Namun konsep dan aplikasi bioremediasi tidak semudah yang dibayangkan, tidak jarang aplikasi bioremediasi menjadi gagal karena pemahaman iptek yang belum paripurna.

Buku "Telaah Mendalam tentang Bioremediasi: Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air" menyajikan uraian yang cukup utuh tentang bioremediasi dalam perspektif teori, menjelaskan peran, dan fungsi mikroba dalam proses penguraian serta faktor-

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

faktor pembatasnya; status riset biodegradasi, menjelaskan bahwa penguraian oleh mikroba tidak terbatas pada senyawa organik berupa minyak mentah; dan aplikasi bioremediasi di Indonesia serta kasus-kasus yang menyertainya. Penemuan-penemuan mikroba asal Indonesia yang berperan sebagai agen bioremediasi sangatlah kurang sehingga usaha untuk mengkolleksi mikroba Hutan Tropis Indonesia melalui *Indonesian Tropical Forest–Culture Collection* (INTROF-CC) di bawah Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan menjadi tantangan yang tidak boleh diabaikan.

Saya berkeyakinan bahwa buku ini akan memberikan manfaat baik bagi pemerintah, swasta, perguruan tinggi, dan masyarakat umum. Fakta ilmiah yang dimuat dalam buku ini dapat dijadikan landasan berpijak, acuan, inspirasi, dan pengkayaan ilmu. Terakhir, saya ucapkan banyak terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada penulis dan semua pihak yang telah bersedia meluangkan waktunya untuk menyusun dan menyunting buku ini. Curahan tenaga, pikiran, dan kerja keras kita semua adalah bagian yang tidak terpisahkan dalam upaya melindungi dan melestarikan lingkungan dari kemerosotan baik fungsi maupun kualitasnya.

Dr. Ir. Kirsfianti L. Ginoga

Kepala Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan
Badan Litbang dan Inovasi

PRAKATA

Lingkungan darat, laut, dan udara di bumi ini adalah anugerah Tuhan YME dan digunakan sebagai tempat untuk hidup dan berkembang biak. Pada sebuah lingkungan yang normal, setiap makhluk hidup yang ada didalamnya memainkan peran yang saling menguntungkan. Tanaman memproduksi oksigen, sementara mikroorganisme mendaur ulang sisa buangan yang tidak bermanfaat menjadi bermanfaat bagi lingkungannya. Kerusakan lingkungan sebagian besar (> 75%) terjadi karena ulah manusia, sedangkan sisanya akibat fenomena alam (misalnya erupsi). Sengaja atau tidak, aktifitas manusia telah mendorong lingkungan menjadi rusak. Lingkungan menjadi tidak normal atau bahkan menjadi berbahaya bagi makhluk yang mendiaminya.

Sebagian dari kita mungkin sudah banyak yang mengenal istilah polutan atau limbah sisa buangan. Ledakan penduduk akan menyebabkan meningkatnya aktifitas industri modern dan pertanian, akibatnya terjadi peningkatan jumlah limbah berupa senyawa-senyawa berbahaya berkonsentrasi tinggi dan sulit terurai. Bukan hanya itu, bencana longsor dan banjir terjadi dimana-mana dan menjadi kejadian yang biasa. Air yang kita butuhkan menjadi langka, tercemar, dan berbau. Pada musim kemarau, bencana kekeringan, kebakaran hutan dan lahan pun terjadi. Hal tersebut adalah hal yang nyata kita rasakan sekarang ini sebagai akibat dari pemanfaatan dan pengelolaan sumberdaya alam yang kurang bijak.

Perlu kerja keras dan bukan perkara yang mudah untuk mengembalikan lingkungan yang sudah rusak. Waktu, tenaga, biaya, ilmu, komitmen, dan konsistensi kita semua perlu dicurahkan untuk mengembalikannya. Hutan alam Indonesia yang begitu kaya akan keanekaragaman flora dan fauna, akan sangat sulit dikembalikan pada kondisi asalnya jika sudah rusak. Bahkan jika diberi waktu 100 tahun dengan biaya yang tak terbatas, saya berkeyakinan sekalipun dapat kembali dipulihkan

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

tetapi hasilnya tidak akan sanggup menandingi kondisi awalnya. Namun demikian usaha sungguh-sungguh harus terus kita lakukan agar kerusakan lingkungan tidak menjadi sangat parah, paling tidak menjaganya tetap aman dan sehat bagi kita semua.

Berangkat dari itu semua, mikroba adalah jasad renik yang sangat penting. Mereka tidak henti-hentinya melakukan penguraian dan dekomposisi limbah buangan. Bisa dibayangkan jika mereka berhenti melakukan fungsinya, berjuta-juta tumpukan limbah akan menutupi permukaan bumi ini. Di tilik lebih detail, mikroba melakukan proses penguraian dengan bantuan enzim. Daerah aktif pada enzim berfungsi dan bertanggung jawab dalam proses dekomposisi. Perlu diingat, mereka adalah makhluk hidup, mereka hanya akan optimal melakukan fungsinya jika faktor-faktor pembatasnya dikendalikan dan diminimalisasi. Berpijak dari konsep ini, metode bioremediasi kemudian muncul sebagai alternatif pemulihan lingkungan tercemar secara biologis. Sejalan dengan waktu, metode bioremediasi menjadi metode yang ramah lingkungan, diterima oleh masyarakat luas karena dengan metode ini proses penguraian lingkungan yang tercemar terjadi dalam arti yang sebenarnya. Selain itu, metode ini adalah metode yang paling murah, membutuhkan biaya sekitar 95US \$/m³, dan jauh lebih murah dibandingkan dengan metode konvensional (fisik dan kimia). Secara detail aspek teori bioremediasi dijelaskan dalam Bab II.

Baik jamur dan bakteri telah banyak ditemukan memiliki kemampuan untuk mengurai beberapa polutan berbahaya. Jamur *Trametes* sp. RT10 yang identik secara genetik (*Similarity index* = 99%) dengan *Trametes hirsuta* adalah jamur yang diisolasi dari Hutan Mangrove di Propinsi Riau–Indonesia. Jamur ini menunjukkan kemampuannya dalam mengurai phenanthrene, senyawa yang memiliki 3 cincin benzene. Phenanthrene juga termasuk kelompok senyawa polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) yang terdapat dalam minyak mentah. Sebagai bukti lain dari kemampuannya, senyawa metabolik esensial, phenanthrene dihidrodiol teridentifikasi. Proses penguraian terjadi melalui bantuan enzim monooksigenase menghasilkan dihidrodiol, dan enzim perosidase serta lakase kemudian mengkonversi lebih lanjut

menghasilkan quinon. Peran mikroba yang lain dalam penguraian minyak mentah (petroleum hidrokarbon), zat pewarna, dan senyawa berklorinasi dijelaskan pada Bab III dan IV. Meskipun banyak mikroba yang telah ditemukan, namun informasi tentang mikroba yang berasal dari Indonesia dan berperan sebagai agen bioremediasi masih sangat minim. Kalau pun ditemukan, informasi yang dipaparkan sangat terbatas dan bahkan uraian tentang mekanisme aksi penguraian tidak ditemukan sama sekali. Oleh karena itu, keadaan ini membuka peluang yang sangat lebar bagi para peneliti untuk berkonsentrasi dan fokus untuk mengkoleksi mikroba Hutan Tropis Indonesia dan mengungkap perannya dalam proses penguraian.

Regulasi yang mengatur proses bioremediasi di Indonesia tertuang dalam Keputusan Menteri Lingkungan Hidup (LH) No. 128 Tahun 2003. Pada tahun 2012, aplikasinya diterjang badai kasus bioremediasi fiktif. Kondisi ini sangat merugikan ditengah kondisi lingkungan Indonesia yang terus mengalami penurunan kualitas. Perlu perhatian yang sangat serius yang didasari oleh suatu kenyataan bahwa lingkungan tercemar harus dipulihkan dengan metode yang benar, jauh dari hasil yang menyimpang, dan berbiaya murah (Bab V). Buku berjudul "Telaah Mendalam tentang Bioremediasi: Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air" diharapkan dapat memberikan gambar yang jelas tentang teori bioremediasi, studi dasar yang mendukung keberhasilan, peran penting dari mikroba, serta mempertegas minimnya informasi bioremediasi di Indonesia. Selanjutnya pelestarian mikroba menjadi kunci sangat penting karena mereka dapat dimanfaatkan dalam arti luas untuk pembangunan ekonomi dan lingkungan. Akhirnya, penulis menyampaikan penghargaan setinggi-tingginya atas bantuan dan dorongan semua pihak sehingga buku ini dapat diselesaikan penulisannya

Asep Hidayat
Chairil Anwar Siregar



DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	v
KATA SAMBUTAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II BIOREMEDIASI DALAM PERSPEKTIF TEORI	5
2.1. Pengertian Biodegradasi dan Bioremediasi	7
2.2. Peran Mikroba dalam Proses Bioremediasi	10
2.2.1. Degradasi Secara Enzimatik	10
2.2.2. Faktor Pembatas Degradasi	12
2.3. Strategi Bioremediasi	20
2.4. Tipe atau Teknik Bioremediasi	23
2.4.1. Bioremediasi <i>In-situ</i>	23
2.4.1.1. Bioremediasi Intrinsik	24
2.4.1.2. Bioremediasi Biostimulasi	24
2.4.1.2.1. Bioremediasi pada Zona Vedosa Tanah	24
2.4.1.2.2. Bioremediasi pada Air Tanah dan Zona Tanah Jenuh	25
2.4.2. Bioremediasi <i>Ek-situ</i>	28
2.4.2.1. <i>Landfarming</i>	28
2.4.2.2. <i>Composting</i> (Pengomposan)	29
2.4.2.3. <i>Biopiles</i>	29
2.5. Keuntungan dan Kelemahan Bioremediasi	30

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

BAB III BIODEGRADASI PETROLEUM HIDROKARBON	33
3.1. Karakteristik Tumpahan Minyak Pada Air dan Tanah	37
3.2. Biodegradasi Petroleum Hidrokarbon	38
3.3. Biodegradasi Fraksi Minyak Mentah	41
3.3.1. Alifatik	42
3.3.1.1. Jamur	42
3.3.1.2. Bakteri	44
3.3.2. Aromatik	47
3.3.2.1. Jamur	49
3.3.2.2. Bakteri	53
3.3.3. Resin dan Aspal	54
BAB IV BIODEGRADASI SENYAWA BERWARNA DAN BERKLORINASI ..	59
4.1. Senyawa Berwarna	59
4.1.1. Jenis dan Tipe Zat Pewarna	61
4.1.2. Mekanisme Aksi Perombakan	63
4.1.3. Mikroba Pengurai Zat Pewarna.....	65
4.1.4. Prospek Perkembangan Teknologi	70
4.2. Senyawa Berklorinasi.....	74
4.2.1. Kelompok Senyawa POPs Berklorinasi	77
4.2.2. Mekanisme Aksi Perombakan	79
4.2.3. Mikroba Pengurai	81
4.2.4. Prospek Perkembangan Teknologi.....	82
BAB V APLIKASI BIOREMEDIASI DI INDONESIA	85
5.1. Dasar Peraturan Terkait Lingkungan dan Bioremediasi	87
5.2. Bioremediasi di PT. Chevron Pasific Indonesia	91
5.3. Upaya Tindak Lanjut	93
BAB VI PENUTUP	95
DAFTAR PUSTAKA.....	99
PROFIL PENULIS	121

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Elektron akseptor yang dibutuhkan selama proses penguraian oleh mikroba	13
Tabel 2.2 Beberapa organik polutan yang umum ditemukan di lingkungan	20
Tabel 2.3 Poin-poin penting yang perlu diperhatikan dalam memilih teknik bioremediasi	30
Tabel 3.1 Karakteristik cecceran minyak yang mengkontaminasi tanah dan air	37
Tabel 3.2 Jamur dan bakteri pengurai petroleum hidrokarbon	40
Tabel 3.3 Beberapa jenis bakteri pengurai alifatik	45
Tabel 3.4 Beberapa jenis jamur pengurai polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH)	52
Tabel 3.5 Beberapa jenis akteri pengurai polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH)	53
Tabel 4.1 Beberapa jamur dan bakteri pengurai zat pewarna	62
Tabel 4.2 Jamur dan bakteri pengurai zat pewarna	67
Tabel 4.3 Beberapa jamur dan bakteri pengurai senyawa berklorinasi	81



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Perkiraan biaya untuk pemulihan tanah terkontaminasi bahan berbahaya	9
Gambar 2.2 Contoh reaksi hidrosilase	11
Gambar 2.3 Contoh reaksi oksidoreduktase	13
Gambar 2.4 Persyaratan yang diperlukan agar proses penguraian berlangsung	20
Gambar 2.5 Teknik bioremediasi dengan <i>bioventing</i>	25
Gambar 2.6 Teknik bioremediasi dengan penghalang reaktif biologis	26
Gambar 2.7 Teknik bioremediasi dengan <i>biosparging</i>	26
Gambar 2.8 Teknik bioremediasi dengan <i>bioslurping</i>	27
Gambar 2.9 Teknik bioremediasi dengan <i>landfarming</i>	28
Gambar 3.1 Struktur kimia, alifatik: A) garis lurus (n-oktadekana), B) cabang (pristane), C) siklo (sikloheksan), D) aromatik hidrokarbon (benzene), E) polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH, phenanthrene)	34
Gambar 3.2 Jalur degradasi alifatik (alkana), terminal oksidasi (A), subterminal oksidasi (B), dan via akil hidroperosidase (C)	43
Gambar 3.3 Jalur degradasi alifatik oleh <i>Fusarium</i> sp. F092	44
Gambar 3.4 Jalur degradasi alifatik oleh <i>Pestalotiopsis</i> sp. NG007, terminal oksidasi mono- (1a), di- (1b), akil hidroperosidase (2), dan subterminal oksidasi (3)	46

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

Gambar 3.5 Struktur kimia beberapa polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH)	48
Gambar 3.6 Jalur awal degradasi polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) oleh mikroba	49
Gambar 3.7 Jalur degradasi chrysene oleh <i>Fusarium</i> sp. F092	50
Gambar 3.8 Struktur kimia aspal, A) Murgich <i>et al.</i> (1999) dan Speight, Moschopedis.	55
Gambar 4.1 Mekanisme pemecahan ikatan azo, menghasilkan reaksi yang simetris dan asimetrik	64
Gambar 4.2 Struktur kimia Remazol B. Violet (V5)	66
Gambar 4.3 Struktur kimia 12 senyawa <i>persistent organic pollutants</i> (POPs) hasil konvensi Stockholm 2001	76
Gambar 4.4 Mekanisme penguraian beberapa senyawa berklorinasi a) peran dioksigenase; b) peran monooksigenase tanpa mengganti gugus klor; c) peran monooksigenase dengan mengganti dan pemindahan gugus klor dan; d) peran lignin peroksidase; e) peran dehalogenase	80

BAB I

PENDAHULUAN

Lingkungan yang kita tempati merupakan karunia Tuhan YME, yang tak ternilai harganya. Pada lingkungan yang normal, tanaman mampu merubah senyawa kimia anorganik menjadi bentuk senyawa organik melalui proses fotosintesis dengan bantuan klorofil dan energi surya. Sementara mikroba berperan sebaliknya mengkonversi kembali senyawa kimia organik (hewan, jasad renik, dan tanaman mati) menjadi bentuk senyawa kimia anorganik. Satu sama lain saling bekerjasama yang saling membutuhkan. Selanjutnya, di manakah posisi manusia dalam lingkungan yang biasa disebut dengan lingkungan hidup? Tuhan YME telah memperingatkan kita dalam QS Al-Baqarah, 2: 11, QS Al-A'raf, 7: 56, dan QS Al-Rum, 31: 41. Inti dari peringatan-NYA adalah menempatkan posisi manusia sebagai makhluk perusak di muka bumi ini. Ketika mereka dilarang untuk tidak merusak, manusia selalu mengatakan dan berdalih bahwa mereka justru melakukan perbaikan.

Peringatan tersebut nyata-nyata telah tampak terjadi, lingkungan sedang terancam. Darat, laut, air, dan udara telah mengalami penurunan kualitas dan fungsinya secara drastis. Air yang kita perlukan menjadi langka dan tercemar. Sudaryanto *et al.* (2002) melaporkan bahwa air bersih di beberapa tempat di kota Surabaya telah terkontaminasi oleh senyawa *1,1,1-trichloro-2,2-bis(4-chlorophenyl) ethane* (DDT). Lebih jauh dari itu, Aislabie *et al.* (1997) mendeteksi DDT pada ikan sebagai residu tak terurai. Mereka menyebar masuk dalam jaringan tubuh manusia, plasma darah, hati, dan air susu ibu (ASI) (Tanabe *et al.* 1990, Dale *et al.* 1965). Kebakaran hutan menyebabkan lahan hutan menjadi terkontaminasi oleh *polychlorinated dibenzo-p-dioxins* (Gribble 1994).

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

Indonesia sebagai negara maritim memiliki jalur perdagangan laut yang sibuk. Kaya akan sumberdaya alam, di mana bidang pertambangan dan eksploitasi minyak bumi menjadi sumber pendapatan negara terbesar. Survei eksplorasi kandungan minyak mentah di Indonesia pertama kali dilakukan pada tahun 1924. Tahun 1936 eksplorasi pertama kali dilakukan. Tidak bisa dipungkiri bahwa wilayah Indonesia menjadi sangat rawan tercemar tumpahan minyak mentah. Tercatat beberapa kejadian tumpahan minyak terjadi di Provinsi Kalimantan Timur, Riau, dan Jawa Barat. Pada Tahun 1999, 4000 barrel minyak mentah tumpah dari Kapal Tanker (*MT King Fisher*) di Laut Cilacap–Jawa Tengah. Tahun 2009 tumpahan minyak terjadi di Manyar, Gresik–Jawa Timur. Tahun 2014, tumpahan minyak terjadi di daerah Indramayu dan sepanjang 7 km garis pantai tercemar. Pada tahun yang sama 200 barrel minyak mentah dari bocornya sumur di Bakau Area 07, baik berbentuk minyak dan lumpur, masuk ke sungai rawa di Kabupaten Siak–Riau. Dari rentetan peristiwa perusakan lingkungan ini, maka upaya penanganan, pencegahan, dan pemulihan lingkungan tercemar menjadi sangat penting adanya.

Metode pemulihan lingkungan tercemar dapat dilakukan secara konvensional: fisik (insinerasi, pencucian) dan kimia (ekstraksi, reaksi kimia, pengenceran). Namun pada banyak kasus, metode ini hanya merupakan proses memindahkan pencemar dari satu fase ke fase yang lain (satu tempat ke tempat yang lain). Metode lain yang dapat dipilih adalah dengan cara biologis. Metode ini didasari oleh suatu kenyataan bahwa dalam sebuah ekosistem yang utuh, mikroba (jamur dan bakteri) memiliki fungsi yang sangat luas dan penting dalam mendaur ulang sisa buangan (hewan, jasad renik, dan tanaman mati). Mereka melakukan penguraian tanpa henti walau hanya sedetik. Bisa dibayangkan jika mereka berhenti melakukan fungsinya, berjuta-juta tumpukan limbah akan menutupi dunia ini. Sangat istimewa lagi fungsi mikroba di alam ini, tidak hanya terbatas sebagai agen pengurai. Mereka juga dapat dimanfaatkan sebagai salah satu *bioresource* untuk pembangunan ekonomi dan lingkungan, seperti obat-obatan, *bioenergi*,

bioplastik, *biofertilizer*, dan makanan. Mereka adalah makhluk hidup, di mana makhluk kecil ini hanya akan hidup jika kondisi lingkungannya mendukung untuk menghasilkan apa yang kita inginkan.

Sejalan dengan waktu, dalam upaya pemulihan lingkungan tercemar, metode bioremediasi telah menjadi metode yang ramah lingkungan dan diterima oleh masyarakat luas. Proses penguraian terjadi dalam arti yang sebenarnya melalui proses metabolisme, mengkonversi polutan (*substrates*) menjadi CO_2 dan H_2O atau produk antara melalui reaksi organik yang dikatalisasi oleh enzim. Kelompok enzim oksidoreduktase dan hidrolase sangat berperan dalam proses biodegradasi. Oksidoreduktase memecah ikatan utama kimia dalam sebuah molekul dan membantu mentransfer elektron dari senyawa pendonor ke senyawa akseptor. Hidrolase memecah ikatan utama kimia dalam sebuah molekul dan mengkatalisasi beberapa reaksi termasuk kondensasi dan alkoholisis. Selain itu, bioremediasi adalah metode yang paling murah (sekitar 95US \$/m³), dan jauh lebih murah dibandingkan dengan metode konvensional.

Tahun 1970, aplikasi bioremediasi pertama kali dilakukan untuk mengurai tumpahan minyak di Ambler, Pennsylvania. Tahun 1974 Richard Raymond untuk pertama kalinya mendapatkan paten tentang teknik bioremediasi setelah bioremediasi sukses dilakukan di lapangan. Di Indonesia aplikasi bioremediasi diinisiasi oleh PT Chevron Pasific Indonesia (CPI, perusahaan migas terbesar) pada awal tahun 1994 dengan fokus kegiatan operasi skala laboratorium dan pilot. Tahun 2002 operasi bioremediasi skala besar mulai dijajaki. Seiring dengan itu, tahun 2003 regulasi yang mengatur bioremediasi minyak mentah diterbitkan (Kepmen LH No. 128 tahun 2003). Sampai dengan saat ini PT. CPI mengklaim bahwa bioremediasi yang telah dilakukannya berhasil memulihkan tanah tercemar lebih dari 500.000 m³, di mana tanah tersebut digunakan untuk proses penghijauan seluas 60 ha. Namun sayang, dipertengahan tahun 2012, proses bioremediasi yang dilakukan CPI selama ini di terjang badai kasus bioremediasi fiktif. Sungguh kondisi ini sangat merugikan di tengah keadaan lingkungan Indonesia yang terus mengalami penurunan dan keterancaman.

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

Buku ini disusun untuk memberikan gambaran lebih detail tentang peran mikroba dalam mengurai limbah senyawa organik, faktor-faktor apa saja yang mempengaruhinya, serta teknik-teknik bioremediasi apa saja yang dapat diaplikasikan (Bab II). Status riset pengurai senyawa organik, seperti pada minyak mentah, zat pewarna, dan senyawa berklorinasi yang dimainkan oleh mikroba diuraikan secara detail pada Bab III dan IV. Uraian tentang aplikasi bioremediasi pada kasus minyak mentah di Indonesia, peraturan yang mengatur dan kasus-kasus yang terjadi selama aplikasinya, disajikan dengan jelas pada Bab V. Disamping itu, uraian dalam buku ini akan memberikan sebuah gambaran yang jelas bahwa proses bioremediasi hanya akan terjadi bila ada mikroba. Oleh karenanya, pelestarian mikroba umumnya disebut juga sebagai mikroba tanah, menjadi kunci sangat penting karena mereka dapat dimanfaatkan dalam arti luas dalam menunjang kebutuhan hidup manusia yang semakin bertambah tambah.

BAB II

BIOREMEDIASI DALAM PERSPEKTIF TEORI

Menilik perannya dalam sebuah ekosistem, mikroba atau mikroorganismenya mempunyai fungsi yang sangat penting dalam mengurai dan mendaur ulang sisa buangan atau limbah organik. Melalui peran mikroba, limbah diurai menjadi unsur yang bermanfaat bagi lingkungan disekitarnya. Proses penguraian terjadi setiap detik, tidak pernah berhenti dan telah terjadi sejak jutaan tahun yang lalu. Sebagai contoh ketika sehelai daun jatuh dari pohon dan tergeletak di atas permukaan tanah, perlahan-lahan massa daun akan didekomposisi oleh mikroba. Tanah akan kaya dengan bahan organik, berasal dari dekomposisi serasah daun, dan pada gilirannya tanah akan kaya dengan unsur hara. Akhirnya tanaman dapat tumbuh dan berkembang dalam memanfaatkan lingkungan tumbuh yang lebih baik. Bagaimana seandainya bila proses penguraian oleh mikroba tersebut berhenti? Berapa banyak limbah yang harus tertimbun dan menumpuk dipermukaan bumi? Bukan hanya buruk secara estetika akan tetapi pasti berdampak negatif terhadap lingkungan hidup, termasuk kesehatan manusia. Disadari atau tidak, sebagian dari kita telah sering kali mengabaikan keberadaan mikroba pengurai yang tidak terlihat dengan mata telanjang. Manusia, sebagian sudah mulai terpesona dengan kekuasaan Tuhan. Sepak terjang mikroba mulai berkuak sedikit demi sedikit dalam banyak proses dekomposisi dan degradasi yang terjadi secara alamiah, berhamoni satu sama lain memerankan fungsinya dalam sebuah ekosistem yang sempurna sebagai tempat hidup makhluk hidup. Namun demikian, masih ada

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

bahkan sebagian dari kita sampai saat ini yang masih menganggap bahwa mikroba adalah makhluk atau jasad renik yang menjijikkan dan tidak penting.

Perkembangan ilmu pengetahuan yang dikuasai manusia mengacu pada terminologi atau istilah “bioteknologi”, yaitu penerapan teknik biologi dalam proses pengembangan produk dan jasa yang menguntungkan. Sebenarnya sejak awal sejarah peradaban dunia ini tercipta, proses tersebut sudah terjadi. Istilah bioteknologi pertama kali digagas oleh Karl Eezy seorang insiyur asal Hungaria pada tahun 1919. Dengan memanfaatkan fungsi mikroba, banyak produk bioteknologi telah dihasilkan, seperti berbagai jenis makanan (*yogurt* dan keju) dan beragam produk kesehatan (antibiotik, anti kanker, kosmetik dan obat-obatan lain). Pada tahun 1860, Louis Pasteur menemukan bahwa terdapat hubungan yang erat antara perubahan struktur senyawa kimia dengan aktivitas mikroba. Istilah perubahan tersebut lebih mengarah pada konversi struktur senyawa kimia yang dilakukan oleh mikroba. Hari ini, fenomena tersebut lebih dikenal dengan istilah biodegradasi. Pada tahun 1952, Gayle menguji peran mikroorganisme dalam menguraikan senyawa organik berbahaya, dengan sebuah hipotesis mengenai kesempurnaan potensi mikroba. Gayle pada akhirnya menyimpulkan bahwa ketika senyawa organik berbahaya berada di suatu lingkungan, maka akan ada mikroorganisme yang mampu menguraikan senyawa tersebut secara sempurna ke ambang yang tepat (tidak lagi mencemari).

Beberapa peraturan dan perundangan tentang lingkungan di negara maju, antara lain: *Occupational Safety and Health Act* (OSHA) tahun 1970, *the Clean Air Act* (CAA) tahun 1970, *Clean Water Act* (CWA) tahun 1972, *Safe Drinking Water Act* (SWA) tahun 1974, dan *Toxic Substance Control Act* (TSCA) tahun 1976, telah banyak mendorong pemanfaatan teknologi bioremediasi. Namun aplikasi bioremediasi ternyata masih gagal memenuhi apa yang diharapkan. Penambahan mikroba tertentu (bioaugmentasi) atau pemanfaatan mikroba lokal (biostimulasi) secara fisiologi dan genetik lebih baik untuk proses penguraian. Namun proses penguraian tidak terjadi dikarenakan

terdapatnya beberapa faktor pembatas, yaitu pH, suhu, kelembapan, elektron akseptor, struktur tanah, nutrisi, dan toksisitas substrat. Pada saat berdirinya *US Environmental Protection Agency* (EPA) yaitu tahun 1970, aplikasi bioremediasi pertama dilakukan untuk mengurai tumpahan minyak di Ambler, Pennsylvania. Kemudian tahun 1974 Richard Raymond untuk pertama kalinya mendapatkan paten tentang bioremediasi setelah bioremediasi sukses dilakukan di lapangan. Semenjak itu penelitian-penelitian dan aplikasi bioremediasi lebih terfokus dan mengarah pada aplikasi untuk memodifikasi mikroba, memanfaatkan mikroba lokal, dan peningkatan teknologi agar proses bioremediasi dapat berlangsung dengan cepat dan tepat.

2.1. Pengertian Biodegradasi dan Bioremediasi

Biodegradasi secara harfiah mengandung pengertian "*degrade*" dengan arti penguraian, dan "*bio*" dengan arti biologi organisme. Biodegradasi dapat diartikan sebagai proses transformasi sebuah substrat menjadi substrat baru melalui reaksi secara biokimia dengan keterlibatan mikro-organisme seperti bakteri, dan jamur dalam prosesnya (Geological Survey 2007; EPA 2009). Reaksi secara biokimia menitikberatkan pada proses metabolisme dan melibatkan enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme, sehingga disebut juga reaksi enzimatik. Sementara itu, bioremediasi secara harfiah mengandung pengertian "*remediate*" dengan arti pemulihan dan "*bio*". Bioremediasi dengan demikian, diartikan sebagai respon biologis menuju perbaikan substrat pada lingkungan yang telah rusak atau tercemar. Hamer (1993) mendefinisikan, bioremediasi adalah penggunaan organisme yang hidup, utamanya mikroorganisme untuk menguraikan pencemar di lingkungan menjadi bentuk pencemar yang kurang berbahaya atau tidak berbahaya. Kemudian Vidali (2001) dan Boopathy (2000), mendefinisikan bioremediasi sebagai penggunaan mikroorganisme atau tumbuhan tingkat tinggi yang ada di alam untuk mempurifikasi material berbahaya. Selanjutnya Watanabe (2001) secara terpisah mendefinisikan bioremediasi sebagai pemanfaatan potensi metabolik

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

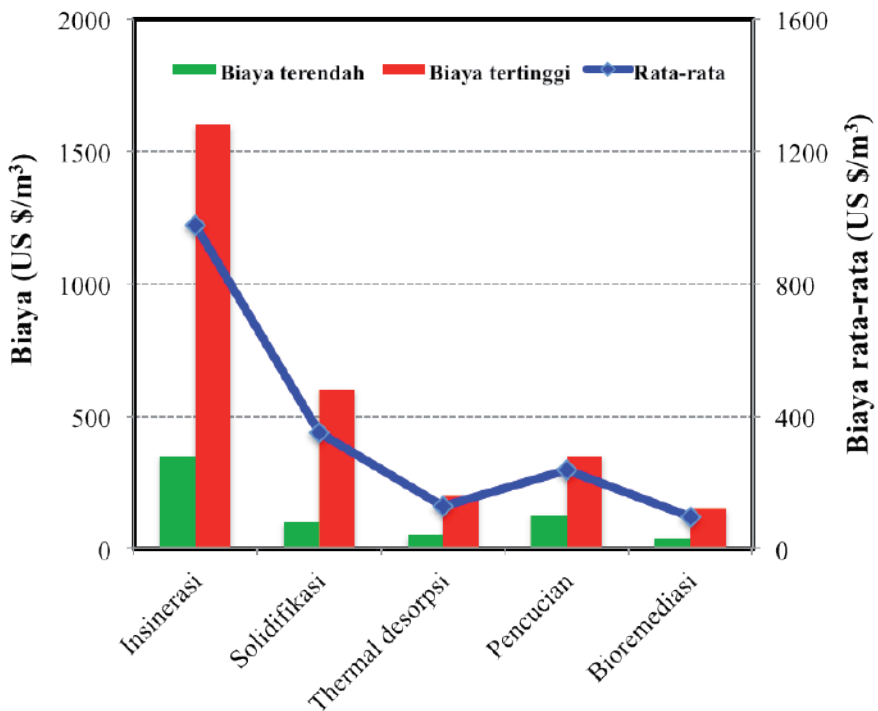
Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

organisme dan enzim yang diproduksinya untuk menguraikan bahan tercemar berbahaya. Pengertian biodegradasi dan bioremediasi memiliki kemiripan karena keduanya melibatkan biologi organisme dalam prosesnya. Namun biodegradasi lebih bertitik berat pada proses yang terjadi, sementara bioremediasi lebih menekankan pada aplikasi dari proses tersebut.

Alvarez dan Illman (2006) menyatakan bahwa mikroba lokal (*indigenous*) melakukan proses penguraian senyawa organik dan memanfaatkannya sebagai sumber karbon dan energi. Laju proses degradasi yang sangat bervariasi, tergantung pada jenis dan besarnya populasi mikroba, sifat fisik, dan kimia senyawa organik serta kondisi lingkungan. Proses tersebut terjadi secara alami pada lingkungan yang terkontaminasi tanpa ada campur tangan manusia. Ketika proses tersebut melibatkan intervensi manusia dengan harapan laju biodegradasi dapat dipercepat maka istilah bioremediasi kemudian muncul dan menjadi populer. Dash *et al.* (2013) menjelaskan bahwa bioremediasi adalah usaha untuk mengakselerasikan terjadinya penguraian material bersifat toksik secara alami melalui optimalisasi faktor tumbuh pada kondisi suboptimum.

Konsep bioremediasi ini kemudian menjadi sebuah metode yang menawarkan proses pemulihan lingkungan tercemar menjadi kembali normal dan aman bagi kehidupan. Sebelumnya, untuk mengembalikan lingkungan tercemar, dilakukan serangkaian operasi dengan metode konvensional, seperti: insinerasi, solidifikasi, desorpsi thermal (*thermal desorption*), dan pencucian. Biaya yang dikeluarkan untuk pemulihan lingkungan tercemar dengan metode konvensional tersebut sangat mahal, seperti yang terlihat pada Gambar 2.1 : insinerasi (975US\$/m³), solidifikasi (350US\$/m³), desorpsi thermal (125US\$/m³), dan pencucian (237US\$/m³), (Alvarez, Illman 2006). Logam berat yang mengkontaminasi di beberapa kawasan di India telah menghabiskan biaya sekitar US \$ 3 Miliar (Glass 2000). Di USA, upaya pengembalian lahan yang terkontaminasi telah menghabiskan biaya sebesar US \$ 1,7 Triliun (Irene, Ellen 2003). Haritash dan Kaushik (2009) menyebutkan bahwa metode pemulihan lingkungan terkontaminasi dengan metode

konvensional: secara fisik (insinerasi, pencucian), dan kimia (ekstraksi, reaksi kimia, pengenceran). Pada banyak kasus hanya merupakan proses memindahkan pencemar dari satu fase ke fase yang lain (satu tempat ke tempat yang lain). Berbeda ketika metode bioremediasi yang dipilih untuk digunakan, metode ini menjadi sangat menarik, terjadi secara alami, ramah lingkungan, dan diterima secara luas oleh masyarakat. Begitu juga biaya yang harus dikeluarkan jauh lebih murah (95US\$/m³) dibandingkan dengan metode konvensional.



Gambar 2.1 Perkiraan biaya untuk pemulihan tanah terkontaminasi bahan berbahaya. (Sumber: Alvarez, Illman 2006)

Berdasarkan pengalaman kerja lapangan para ahli bioremediasi, ada beberapa catatan penting yang perlu diperhatikan. Pemahaman mendasar tentang prinsip-prinsip bioremediasi adalah syarat mutlak sebelum bioremediasi ini diaplikasi secara praktis di tingkat lapangan. Berdasarkan uraian yang dijelaskan oleh Malik (2006), tujuan penting

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

aplikasi bioremediasi adalah 1) meningkatkan laju dan tingkat penguraian dari target kontaminan, 2) mengaktifkan mikroba yang dapat bertahan (*survive*) dari keberadaan kontaminan yang bersifat toksik, dan 3) memanfaatkan mikroba tersebut untuk mengurai kontaminan di mana hasil penguraian bukan untuk mendapatkan senyawa yang lebih toksik dibanding kontaminan asalnya. Dengan melihat tujuan ini maka aplikasi bioremediasi bukanlah sebuah pekerjaan yang mudah, sederhana, dan fiktif. Aplikasi bioremediasi akan sukses bila penyusunan teknologinya melibatkan banyak pakar atau profesional dari berbagai disiplin keilmuan, seperti: mikrobiologi, ilmu lingkungan, kimia analisis, genetik, tanah, geologi, dan arsitek.

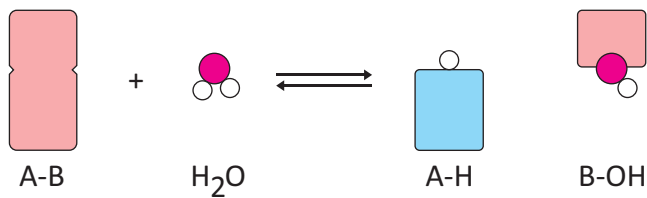
2.2. Peran Mikroba dalam Proses Bioremediasi

Proses bioremediasi sangat tergantung pada keberadaan mikroba pengurai. Prosesnya akan terjadi apabila kondisi lingkungan mendukung bagi mikroba pengurai untuk tumbuh dan aktif melakukan proses penguraian. Proses bioremediasi sering terjadi dengan laju penguraian yang sangat lambat dan hanya dengan adanya mikroba yang tepat sehingga proses tersebut terjadi dengan baik. Mikroba pengurai akan memanfaatkan proses metabolismenya, mengkonversi polutan menjadi produk yang menguntungkan atau produk antara (*intermediate*) melalui reaksi kimia organik yang membutuhkan energi aktivasi yang rendah. Keberadaan enzim yang dihasilkan oleh mikroba akan mempercepat terjadinya reaksi karena enzim berfungsi sebagai katalis.

2.2.1 Degradasi secara Enzimatik

Enzim adalah biomolekul berupa protein atau glikoprotein yang memiliki paling tidak satu polipeptida. Terdapat daerah aktif pada enzim yang terlibat langsung dan bertanggung jawab dalam proses katalisis. Penamaan enzim dibuat berdasarkan mekanisme reaksi. Tata nama enzim, *Enzymes Commission* (E.C.), dikembangkan oleh

International Union of Biochemistry and Molecular Biology yang dikelompokkan ke dalam 6 kategori (Lehninger *et al.* 2004): 1) EC 1 Oksidoreduktase, mengkatalisis reaksi oksidasi atau reduksi; 2) EC 2 Transferase, mentransfer gusus fungsi; 3) EC 3 Hidrolase, mengkatalisis hidrolisis berbagai ikatan; 4) EC 4 *Liase*, memutuskan berbagai ikatan kimia selain melalui hidrolisis dan oksidasi; 5) EC 5 *Isomerase*, mengkatalisis isomerisasi sebuah molekul tunggal; dan 6) EC 6 *Ligase*, menggabungkan dua molekul dengan ikatan kovalen.



Gambar 2.2 Contoh reaksi hidrolase

Chandrakant *et al.* (2011) menjelaskan bahwa dari 6 kategori enzim, kelompok enzim oksidoreduktase dan hidrolase adalah enzim yang sangat berperan dalam proses biodegradasi. Oksidoreduktase terlibat dalam memecah ikatan utama dalam sebuah molekul dan mentransfer elektron dari senyawa pendonor ke senyawa akseptor (Gambar 2.2). Terkadang kofaktor *Nicotinamide adenine dinucleotide* (NAD⁺), *Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADP⁺), *flavin adenine dinucleotide* (FAD⁺), *Flavin mononucleotide* (FMN⁺) dibutuhkan untuk menjembatani terjadinya proses reaksi oksidasi-reduksi. Enzim yang termasuk dalam kategori oksidoreduksi dan berperan dalam proses biodegradasi antara lain dioksigenase, monooksigenase, lakase, lignin peroksidase, manganese peroksidase, dan versatile peroksidase. Hidrolase terlibat dalam memecah ikatan utama dalam sebuah molekul dan mengkatalisis beberapa reaksi termasuk kondensasi dan alkoholisis. Salah satu keuntungan dari kelompok enzim ini adalah tidak diperlukannya kehadiran kofaktor yang terlibat selama proses reaksi. Enzim yang termasuk katagori hidrolase dan berperan dalam proses biodegrdasi adalah lipase, selulase, dan protease. Selain digunakan

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

dalam proses biodegradasi, enzim hidrolase memiliki potensi yang penting untuk diaplikasikan dalam industri makanan dan kimia, biomedis serta pakan (Sanchez-Porro *et al.* 2003).

2.2.2. Faktor Pembatas Degradasi

Mikroba sebagai agen dalam proses bioremediasi telah banyak ditemukan baik yang bersifat *indigenous* (lokal) atau *exsogenous* (introduksi). Umumnya hanya efektif ketika proses degradasi dilakukan pada skala laboratorium karena kondisi lingkungan dapat dikontrol sepenuhnya. Kebanyakan polutan berada pada lingkungan yang tidak berpihak bagi mikroba pendegradasi. Oleh karena itu, proses bioremediasi harus diawali dengan pemahaman terhadap faktor spesifik yang membatasi terjadi proses degradasi supaya tidak menyebabkan terjadinya proses degradasi yang menyimpang, seperti produk hasil degradasi menjadi lebih toksik dibanding sebelumnya. Ketersediaan mikroba yang tepat adalah senjata utama agar proses bioremediasi dapat berlangsung. Apabila banyak kondisi yang mendukung maka proses degradasi akan berlangsung dengan cepat dibandingkan dengan proses yang terjadi secara alami. Beberapa faktor penting dalam proses degradasi diuraikan sebagai berikut:

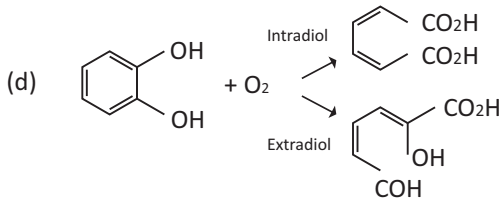
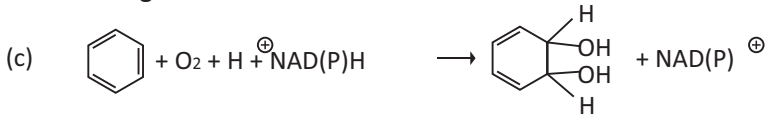
1. Terminal elektron akseptor

Tersedianya terminal elektron akseptor, seperti molekul oksigen, nitrat, sulfat, besi, mangan, dan karbon dioksida diperlukan untuk penyediaan energi. Ketika degradasi terjadi pada kondisi oksigen tersedia (aerobik) maka mekanisme degradasi terjadi melalui: 1) molekul O_2 mensuplai satu atom oksigen (monooksigenase), 2) molekul O_2 mensuplai kedua atomnya (dioksigenasi), dan 3) aktivasi oksidase dan peroksidase (Gambar 2.3).

Monooksigenase



Dioksigenase



Gambar 2.3 Contoh reaksi oksidoreduktase (Sumber: Nelson, Allard 2008)

Namun ketika oksigen tidak tersedia, degradasi terjadi dengan menggunakan molekul inorganik sebagai elektron akseptor atau dikenal dengan istilah respirasi anaerobik (Tabel 2.1). Sebagai contoh, reduksi terjadi melalui oksidasi *nitrate* → *nitrogen* (atau *nitrous oxide*), *sulfate* → *sulfide*, *carbonate* → *methane*, *fumarate* → *succinate*, *trimethylamine-N-oxide (TMAO)* → *trimethylamine*, atau *dimethylsulfoxide* → *dimethyl sulfide*.

Tabel 2.1 Elektron akseptor yang dibutuhkan selama proses penguraian oleh mikroba

Elektron donor (reduktan)	Elektron akseptor (oksidan)	Produk akhir
Aerobik		
Substrat organik (Benzene, toluene, phenol)	O ₂	CO ₂ , H ₂ O

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

Tabel 2.1 Elektron akseptor yang dibutuhkan selama proses penguraian oleh mikroba (lanjutan)

Elektron donor (reduktan)	Elektron akseptor (oksidan)	Produk akhir
NH_4^+	O_2	NO_2^- , NO_3^- , H_2O
Fe^{2+}	O_2	Fe^{3+}
S^{2-}	O_2	SO_4^{2-}
Anaerobik		
Benzene, toluene, phenol	NO_3^- , Fe^{3+} , Mn^{2+}	N_2 , CO_2 , H_2O , Cl^-
Benzene, trichloroethylene	SO_4^{2-}	S^{2-} , H_2O , CO_2 , Cl^-
H_2	SO_4^{2-}	S^{2-} , H_2O
H_2	CO_2	CH_4 , H_2O
Fermentasi		
Substrate organik	Senyawa organik	CO_2 , CH_4

Sumber: Nelson, Allard 2008

2. pH tempat tumbuh

Kondisi pH di tanah atau air sangat memengaruhi aktivitas mikroba dan laju bioremediasi (Ajoku, Oduola 2013). pH netral sangat cocok untuk berkembang dan tumbuh suburnya mikroba. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kisaran pH 6.5–7.5 sangat cocok bagi mikroba pengurai hidrokarbon (EPA 1993; Eweis *et al.* 1998; Margesin, Schinner 2001). Secara spesifik mikroba hanya akan aktif tumbuh pada satu kisaran pH tertentu, seperti: pH asam (*acidophiles*), netral (*neutarophiles*), dan basa (*alkaliphiles*). Lahan terkontaminasi biasanya mengalami perubahan sifat dan karakteristik kimia dari kondisi awalnya. Perubahan sangat ekstrem sering terjadi di lapangan, pH menjadi sangat asam atau sangat basa. Hal ini mengakibatkan mikroba lokal sangat sulit untuk berkembang sehingga tidak jarang laju degradasi menjadi sangat lambat atau bahkan tidak terjadi. Keadaan pH tanah juga memengaruhi keterlarutan fosfor dan nutrisi lain yang diperlukan

oleh mikroba, reaksi biotik kontaminan, dan transformasi unsur berbahaya dalam koloid tanah (pengendapan atau mobilisasi). Perubahan pH juga mengakibatkan polutan pencemar menjadi mudah terjerap kuat pada partikel liat tanah dan proses penguraian menjadi terhambat (Ajoku, Oduola 2013).

3. Suhu lingkungan tumbuh

Suhu tempat tumbuh harus berada dalam kondisi yang tepat untuk mendukung kehidupan mikroba pengurai. *Psychrophiles* adalah mikroba yang tumbuh pada suhu dingin ($< 15^{\circ}\text{C}$), *mesophiles* adalah mikroba yang tumbuh pada suhu moderat ($15\text{--}40^{\circ}\text{C}$) dan *thermophiles* adalah mikroba yang tumbuh pada suhu tinggi ($< 80^{\circ}\text{C}$). Degradasi minyak mentah oleh mikroba hampir tidak ditemukan pada suhu di atas 80°C (*hyper thermophiles*), meskipun ada beberapa mikroba yang mampu mengurai polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) pada suhu mendekati 80°C , seperti *Thermus* dan *Bacillus* (Kato *et al.* 2001; Hao *et al.* 2004). Rike *et al.* (2003) menyebutkan bahwa degradasi tumpahan minyak mentah juga ditemukan terjadi pada suhu di bawah 0°C .

Bioremediasi umumnya terjadi pada suhu yang moderat atau sedang. Suhu optimal selama proses degradasi sangat ditentukan oleh sifat dan karakteristik mikroba. Ketika mikroba mengsekresikan enzim perosidase, dan ketika itu juga, seandainya enzim perosidase dipercaya sebagai enzim yang paling bertanggung jawab dalam proses penguraian, maka suhu optimal harus dipilih agar enzim tersebut dapat secara optimal bekerja. Sebagai contoh, penelitian yang dilakukan oleh Lonergan *et al.* (1993), degradasi *Remazol Brilliant Blue R* (RBBR) oleh *Phanerochaeta chrysosporium* terjadi sangat cepat pada suhu 37°C . Meskipun pertumbuhan *P. chrysosporium* relatif sama pada suhu 28°C , namun tidak berlaku untuk laju degradasi yang melibatkan enzim. Contoh lain, enzim lakase yang diisolasi dari *Polyporus sp. S133* mampu mengurai *anthraquinone dyes* sampai dengan suhu 40°C (Hadibarata *et al.* 2011).

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

4. Struktur tanah

Tanah terdiri dari fase padat, cair, dan gas. Fase padat terdiri dari bahan mineral serta organik, dan merupakan porsi terbesar dari volume tanah. Fase cair dan gas berada pada pori-pori tanah yang komposisinya berubah-ubah tergantung pada musim dan proses pengolahan tanah. Berdasarkan ukurannya, tanah terdiri dari fraksi pasir (2.00–0.05 mm), debu (0.05–0.002), dan liat (<0.002 mm). Jumlah pori-pori yang terisi oleh air dan udara ditentukan oleh komposisi ketiga fraksi tanah tersebut. Kadar air tanah sangat penting untuk banyak alasan termasuk pertumbuhan mikroba tanah (Pepper, Gerba 2005). Air pada tanah dengan fraksi pasir yang tinggi akan mudah menguap. Sementara tanah dengan fraksi liat yang tinggi, mengandung kadar air yang tinggi. Air yang terlalu banyak dan kuat terjerap pada permukaan koloid tanah mengakibatkan jumlah dan populasi mikroba menjadi minimal.

Polutan yang sulit terurai akan mengalami proses perpindahan massa yang rumit melalui kombinasi difusi, enkapsulasi, dan adsorpsi. Gabungan dari proses tersebut lebih dikenal dengan proses penjerapan polutan ke permukaan partikel tanah (Talley 2005). Semakin lama polutan berada di dalam tanah, maka mereka akan sulit diakses oleh mikroba. Kompleksitas penyerapan polutan ditentukan oleh tekstur tanah, kandungan bahan organik, sifat polutan, dan lamanya waktu polutan tercecer.

5. Air dan kelembapan tanah

Air sangat diperlukan oleh mikroba sebagai media asupan oksigen terlarut dan ion mineral. Air yang mengandung ion garam dalam jumlah yang banyak akan menghambat pertumbuhan populasi mikroba, dan mengakibatkan turunnya laju degradasi. Pada kondisi di mana kandungan garam dilarutan tanah cukup tinggi, maka pemilihan jenis mikroba harus disesuaikan, yaitu dengan memilih mikroba yang sangat tahan dan membutuhkan garam untuk hidupnya (*halophilic*). Kelembapan akan memengaruhi laju penguapan, kandungan air tersedia dan pertumbuhan mikroba.

Pada kondisi di mana kelembapan udara berkisar 60–90%, dengan kandungan air tanah 23,1%, masih dimungkinkan bagi mikroba untuk mendegradasi cecceran minyak dari konsentrasi awal 5000 ppm menjadi 500 ppm selama 30 hari.

6. **Nutrisi**

Secara umum komposisi sel mikroba terdiri karbon (C), nitrogen (N), fosfor (P), kalium (K), belerang (S), besi (Fe), kalsium (Ca), magnesium (Mg) dan klorida (Cl) dengan rasio rata-rata 50% C: 14% N: 3% P: 2% K: 1% S: 0.2% Fe: 0,5% Ca, Mg, dan Cl. Unsur-unsur tersebut berada dalam molekul yang berbeda dan secara alamiah terdistribusi untuk semua jenis kehidupan dalam sebuah ekosistem. Keragaman metabolisme yang ada dalam mikroba memastikan bahwa unsur-unsur tersebut tersedia dalam bentuk yang tepat (Singh, Kapoor 2010). Apabila salah satu unsur tidak tersedia maka keadaan tersebut akan membatasi pertumbuhan mikroba dan menyebabkan laju penguraian menjadi lambat (National Research Council 1993).

7. **Bioavailabilitas**

Proses biodegradasi sangat tergantung dari aksesibilitas dan bioavailabilitas polutan. Sebagian besar polutan memiliki sifat kelarutan dalam air yang sangat rendah. Bioavailabilitas mereka ditentukan oleh sifat senyawa pencemar, tipe tanah, kandungan air, temperatur, dan faktor lain. Ketika polutan masuk ke dalam tanah, polutan akan terikat dalam bahan organik dan mineral tanah (fase padat) melalui proses fisika dan kimia. Bioavailabilitas terjadi ketika polutan yang terikat dalam tanah dapat dilepas atau dipindahkan ke dalam sel mikroba melalui proses difusi polutan dari agregat tanah (Megharaj *et al.* 2011). Apabila proses perpindahan tersebut sangat lambat maka proses degradasi juga akan terhambat. Selanjutnya sifat polutan yang memiliki nilai kelarutan dalam air yang rendah akan menyebabkan proses degradasi menjadi terbatas. Mikroba harus berusaha menjadikan polutan cukup tersedia untuk diakses dan diurai melalui penambahan

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

surfaktan (diintroduksi atau diproduksi sendiri oleh mikroba). Surfaktan adalah molekul yang memiliki gugus polar (bersifat hidrofilik) dan gugus non-polar (bersifat lipofilik). Kedua gugus ini membantu mengurangi tegangan permukaan dan interspasial (ruang antara) sehingga kelarutan polutan dalam air meningkat. Surfaktan akan efektif bila konsentrasinya mendekati titik *critical micelle concentration* (CMC). Konsentrasi surfaktan yang berlebihan tidak langsung berkorelasi positif dengan penurunan tegangan permukaan. Surfaktan juga berfungsi sebagai pemicu dalam produksi enzim, sumber karbon dan energi alternatif untuk mikroba (Ding *et al.* 2008; Bautista *et al.* 2009).

8. Keberadaan senyawa lain yang bersifat toksik

Tanah yang terkontaminasi polutan biasanya mengandung kombinasi beberapa senyawa organik, baik yang secara alami sudah tersedia (melalui pembusukan) maupun yang berasal dari aktifitas manusia (penambahan). Ketika campuran bahan organik tersebut tersedia, mikroba akan beraksi secara selektif. Mereka akan mengurai terlebih dahulu senyawa organik yang paling disukai. Senyawa organik yang lainnya akan diabaikan untuk sementara. Kondisi ini disebut dengan fenomena "*diauxy*" (National Research Council 1993) dan berimplikasi serius pada proses degradasi senyawa/substrat/polutan yang ditargetkan.

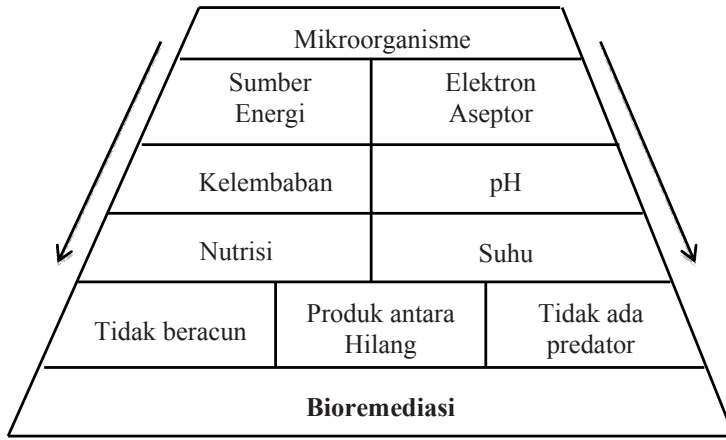
Kandungan polutan yang terlalu rendah menyebabkan bioavailabilitas bahan pencemar menurun. Sebaliknya bila konsentrasi polutan tinggi, bahan pencemar tersebut menjadi sangat toksik. Pada kondisi ini, proses penguraian akan terhambat. Pada beberapa kasus, senyawa produk antara (*intermediate*) yang dihasilkan selama proses degradasi dapat bersifat lebih toksik atau dapat juga bersifat menguntungkan, misalnya pada kasus *chlorinated phenols* menjadi *chlorocatechols* (bersifat lebih toksik) dan pada kasus *vinyl chloride* menjadi *trichloroethylene* (bersifat lebih mudah terurai) (National Research Council 1993).

Terkadang lingkungan terkontaminasi oleh beberapa campuran senyawa berbahaya, seperti minyak mentah yang terdiri dari beberapa senyawa hidrokarbon yang sangat kompleks. Campuran senyawa tersebut akan saling berinteraksi dan memengaruhi laju penguraian (Haritash, Kaushik 2009). Senyawa yang sulit terdegradasi namun berada dalam konsentrasi yang rendah akan mudah terurai, akan tetapi senyawa yang mudah terurai menjadi sulit terdegradasi atau bahkan bersifat toksik karena berkonsentrasi tinggi (Meuller *et al.* 1988; Bouchez *et al.* 1995). Penambahan surfaktan juga dapat menyebabkan proses degradasi terhambat, di mana bioavailabilitas meningkat sehingga menyebabkan polutan tersedia menjadi meningkat (konsentrasi meningkat) dan bersifat toksik bagi mikroba (Cerniglia 1997). Selain kehadiran senyawa lain yang bersifat toksik, keberadaan protozoa yang bersifat predator dengan populasi yang sangat tinggi juga akan mengganggu terjadinya proses biodegradasi.

Sebagian dari kita mungkin menganggap bahwa proses biodegradasi terlihat sangat mudah dan sederhana. Karena dengan adanya mikroba, limbah buangan akan terurai sehingga dunia ini tidak ditumpuki oleh lautan limbah atau sampah. Namun demikian, jika ditilik lebih detail, sesungguhnya metabolisme mikroba akan terjadi pada kondisi lingkungan yang normal. Apabila saja salah satu faktor penentu keberhasilan proses penguraian terabaikan maka sudah dapat dipastikan proses degradasi akan terjadi sangat lambat atau bahkan gagal. Pemahaman tentang proses biodegradasi secara mendalam masih belum menyebar luas di kalangan masyarakat. Biodegradasi dan aplikasinya bukanlah merupakan sebuah proses yang mudah dan segera. Lebih detail lagi Alvarez dan Illman (2006) menjelaskan bahwa biodegradasi terjadi bila syarat-syarat untuk terjadinya proses penguraian dapat terpenuhi. Persyaratan tersebut dituangkan dalam sebuah piramid bioremediasi, seperti yang terlihat pada Gambar 2.4. Mikroba sebagai agen pengurai menempati urutan pertama pada piramid tersebut dan urutan dibawahnya adalah persyaratan lain yang sangat diperlukan agar proses penguraian dari aplikasi bioremediasi dapat terjadi.

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air



Gambar 2.4 Persyaratan yang diperlukan agar proses penguraian berlangsung (Sumber: Alvarez, Illman 2006)

2.3. Strategi Bioremediasi

Bioremediasi bukan merupakan metode baru untuk mengeliminasi polutan atau bahan berbahaya. Metode ini mulai dikomersialisasi pada sekitar 40 tahun yang lalu, ketika negara bagian Pennsylvania di Amerika Serikat memulai melakukan instalasi bioremediasi secara *in-situ* pada tahun 1972 untuk membersihkan ceceran minyak mentah dari kebocoran pipa. Meskipun pertamanya hanya terfokus pada bioremediasi ceceran minyak mentah, namun metode bioremediasi kemudian terus berkembang dan menjadi alternatif baru untuk mengurai beberapa jenis senyawa berbahaya dalam arti yang luas. Tersaji pada Tabel 2.2 beberapa jenis pencemar yang umum ditemukan di lingkungan dan menjadi fokus pada program bioremediasi di beberapa negara maju.

Tabel 2.2 Beberapa organik polutan yang umum ditemukan di lingkungan

Kelas secara kimia	Keberadaan
Gasolin, bahan bakar minyak	Sangat umum
Polisiklik aromatik hidrokarbon	Umum
Kreosot	Jarang

Tabel 2.2 Beberapa organik polutan yang umum ditemukan di lingkungan (lanjutan)

Kelas secara kimia	Keberadaan
Alkohol, keton, ester	Umum
Eter	Umum
Organik berkhlorinasi Polybrominated diphenyls eters (PBDEs)	Sangat umum
Polychlorinated biphenyls (PCBs)	Jarang
Trinitrotoluena (TNT)	Umum
Metal (Cd,Cr,Cu,Hg,Ni,Pb,Zn)	Umum
Nitrat	Umum
Plastik	Sangat umum

Sumber: Data hasil modifikasi dari Maier *et al.* 2000

Berdasarkan tempat pelaksanaan, kegiatan bioremediasi dapat diklasifikasikan menjadi bioremediasi *in-situ* dan *ek-situ*. Bioremediasi *in-situ* dipahami sebagai teknik penguraian di mana senyawa berbahaya diurai secara biologi di lingkungan asalnya. Teknik ini dilakukan di tempat kejadiannya, apakah di tanah, air, dan atau lapisan bawah permukaan tanah. Kondisi asli lokasi tercemar biasanya telah mengalami perubahan dalam sifat fisika dan kimia yang mungkin dapat menghambat perkembangan mikroba pengurai. Beberapa perlakuan diberikan dengan memperhatikan beberapa faktor pembatas seperti diuraikan sebelumnya. Bioremediasi secara *in-situ* menjadi teknik bioremediasi paling superior karena dilakukan tanpa upaya ekstraksi atau pemindahan matriks kontaminan ke tempat lain. Hal ini lah yang menjadikan bioremediasi secara *in-situ* menjadi teknik yang lebih murah karena mikroba lokal (*indigenous*) diaktifasi sedemikian rupa sebagai agen pengurai. Kumar *et al.* (2011) menjelaskan bahwa dalam bioremediasi *in-situ* akan terjadi pergerakan mikroba ke dalam daerah yang terkontaminasi sebagai akibat dari pemberian stimulus atau perlakuan, dikenal dengan istilah "*Chemotaxis*". Pergerakan mikroba tersebut diharapkan berjalan positif (baca: populasi meningkat) sehingga degradasi berjalan sebagaimana mestinya. Sementara itu, bioremediasi *ek-situ* adalah teknik penguraian senyawa berbahaya

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

yang didahului dengan upaya pemindahan polutan ke lokasi lain. Teknik bioremediasi *ek-situ* akan efektif ketika material terkontaminasi (tanah, air, dan lain-lain) dengan konsentrasi tinggi dan terjadi secara tiba-tiba, terjadi akumulasi kontaminan yang terus menerus dan sangat toksik, serta telah terjadi perubahan struktur tanah sebagai akibat proses konversi, eksploitasi, dan penambangan, serta agen pengurai berupa mikroba menjadi benar-benar tidak tersedia.

Bioremediasi juga dapat diklasifikasikan berdasarkan pemberian perlakuan. Mereka dibedakan menjadi biostimulasi dan bioaugmentasi. Bioremediasi secara biostimulasi dilakukan dengan cara memberikan tambahan nutrisi, elektron akseptor, dan oksigen untuk menstimulasi perkembangbiakan mikroba. Dengan kata lain, biostimulasi dilakukan dengan memodifikasi lingkungan agar diperoleh kondisi optimal sehingga *indigenous* mikroba mampu berperan sebagai agen pengurai. Bioremediasi terkadang memiliki laju penguraian yang rendah bila hanya dilakukan oleh mikroba lokal dan penambahan *exogenous* mikroba yang telah teruji biasa dilakukan untuk meningkatkan laju penguraian. Konsep ini dikenal sebagai bioaugmentasi. Mikroba berasal dari luar yang ditambahkan harus ditabur secara merata agar mereka dapat berkompetisi dengan mikroba lokal. Mikroba yang ditambahkan, selanjutnya, harus lebih kuat berkompetisi dan bersaing dengan mikroba lokal. Jika mikroba yang ditambahkan tidak mampu bersaing, maka sudah dipastikan bahwa bioremediasi tidak akan efektif terjadi. Pada beberapa kasus, bioremediasi juga dapat berlangsung baik tanpa harus ada penambahan perlakuan didalamnya. Teknik bioremediasi ini dikenal dengan istilah bioremediasi intrinsik. Beberapa evaluasi awal perlu dilakukan untuk memastikan kesuksesan teknik bioremediasi intrinsik, antara lain adalah bioavailabilitas pencemar, kandungan nutrisi, keberadaan mineral yang dapat menjaga stabilitas pH matriks, ketersediaan elektron akseptor, dan laju perpindahan pencemar (DEQ 1998).

National Research Council (1993) menjelaskan bahwa dalam memilih dan mendisain teknik bioremediasi, beberapa faktor lain harus diperhatikan dan dipertimbangkan agar proses bioremediasi yang

akan dilakukan benar-benar tepat sasaran, seperti: 1) Peraturan yang mengatur tentang manajemen akhir dari tujuan bioremediasi, konsentrasi minimal kontaminan yang dipersyaratkan dari hasil bioremediasi; 2) Pemahaman tentang kontaminan, meliputi jenis senyawa penyusun, konsentrasi, dan tempat terjadinya; 3) Jenis mikroba yang diharapkan, agar proses penguraian secara biologis terjadi secara efektif dengan mencocokkan kemampuan metaboliknya dengan jenis dan konsentrasi kontaminan; dan 4) Perpindahan atau migrasi kontaminan secara dinamik, yang memungkinkan polutan menyebar ke tempat lain sehingga proses bioremediasi menjadi tidak efektif.

2.4. Tipe atau Teknik Bioremediasi

Penerapan aplikasi bioremediasi untuk memulihkan lingkungan terkontaminasi dapat dilakukan dengan beberapa teknik atau tipe bioremediasi. Teknik bioremediasi selalu mengalami perubahan, perkembangan, dan perbaikan sehingga informasi yang akan dijelaskan pada bagian ini akan memiliki keterbatasan dalam hal keterbaruan.

2.4.1. Bioremediasi *In-situ*

Teknik bioremediasi secara *in-situ* umumnya terdiri dari upaya penambahan dan tanpa penambahan perlakuan (instrinsik). Kedua teknik bioremediasi *in-situ* ini benar-benar mengandalkan proses penguraian kontaminan secara alamiah tanpa dan atau dengan penambahan stimulan (biostimulasi). Laju dan lama waktu proses penguraian sangat ditentukan oleh jenis, konsentrasi kontaminan, dan karakterisasi lingkungan. Ketika teknik bioremediasi ini dipilih maka proses evaluasi dan pemantauan harus dilakukan untuk memastikan bahwa mayoritas proses penguraian terjadi secara biologis dan benar adanya. Pengambilan sampel untuk tujuan pengujian, evaluasi, dan monitoring pada proses penguraian dilakukan dengan mempertimbangkan alat analisis yang paling tepat agar dapat memperkecil bias dan mewakili heterogenitas populasinya.

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

2.4.1.1. Bioremediasi Intrinsik

Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya bahwa bioremediasi intrinsik sangat bergantung terhadap proses penguraian secara alami tanpa menambahkan sedikit pun stimulan. Teknik bioremediasi ini dikendalikan dengan cara memantau proses penguraian untuk memastikan bahwa proses bioremediasi masih berlangsung. Bioremediasi intrinsik biasanya dilakukan pada lokasi di mana laju penguraian terjadi lebih besar daripada laju perpindahan kontaminan ke tempat lain. Proses yang terjadi secara alami ini tidak hanya terbatas pada proses bioremediasi (reaksi biologis) tetapi juga pada proses lain, meliputi pengenceran, dispersi, penyerapan, penguapan, reaksi kimia seperti oksidasi, reduksi, dan stabilisasi. Sebelum aplikasi bioremediasi intrinsik dilakukan, penilaian secara menyeluruh terhadap proses tadi perlu dan wajib dilakukan sebagai dasar pengembangan model atau disain. Penerapannya harus dilakukan secara hati-hati, baik monitoring maupun pengendalian sehingga konsentrasi kontaminan benar-benar berada pada batas ambang yang aman bagi manusia dan lingkungan (EPA 1998). Proses monitoring memerlukan rentang waktu yang cukup lama, dan lebih mahal dibandingkan dengan proses bioremediasi yang dilakukan secara aktif. Kegagalan proses bioremediasi intrinsik ini harus dapat dihindari, seperti terbentuknya produk pengurai berupa senyawa yang lebih beracun (EPA 1998).

2.4.1.2. Bioremediasi Biostimulasi

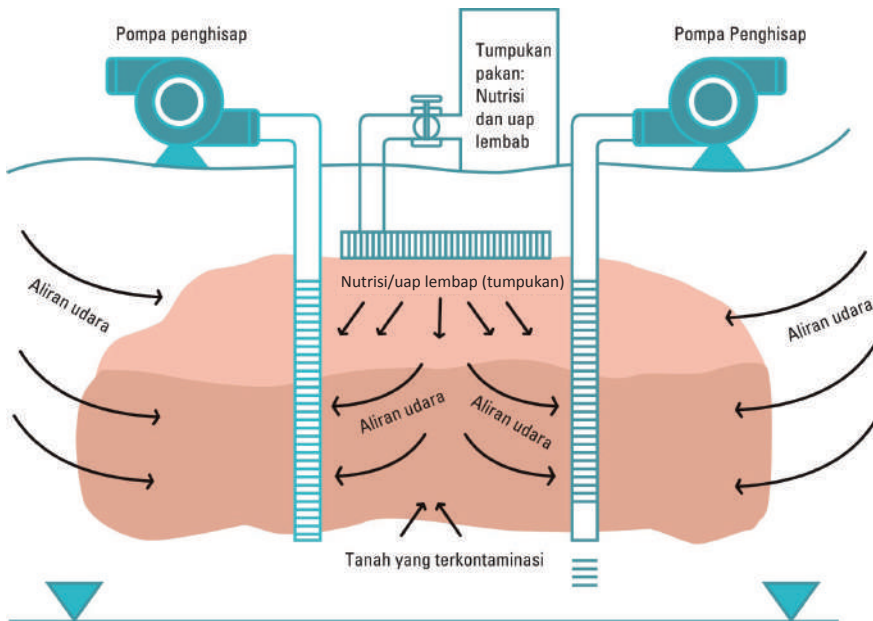
Peningkatan laju penguraian dengan cara penambahan stimulan untuk memodifikasi lingkungan dan meminimalisasi faktor pembatas disebut dengan bioremediasi biostimulasi. Stimulasi harus mampu mengaktifkan mikroba lokal (*indigenous*) sebagai agen pengurai. Bioremediasi ini biasanya diaplikasi di zona vedosa tanah, air tanah, dan sedimen.

2.4.1.2.1. Bioremediasi pada Zona Vedosa Tanah

Zona tanah yang berada di antara permukaan tanah dan muka air tanah disebut zona vedosa. Zona ini bersifat penting untuk menahan pergerakan pencemar ke dalam air tanah. Pergerakan pencemar pada

zona vedosa ditentukan oleh sifat, karakteristik fisik, dan kimia tanah serta jenis pencemar. Pada saat kontaminan berada dalam zona ini, aktivitas biologis sangat miskin. Penambahan perlakuan atau stimulasi dilakukan untuk mengaktivasi baik mikroba aerobik dan juga anaerobik (EPA 2000). Teknologi yang umum digunakan adalah *bioventing*.

Berdasarkan pemberian stimulan, *bioventing* dipisahkan menjadi *bioventing* aerobik (suplai oksigen dan nutrisi), *bioventing* anaerobik (tanpa suplai oksigen, penambahan nutrisi, dan donor elektron), dan *bioventing* ko-metabolik (penambahan substrat organik, seperti *propane*). Gambar 2.5 menggambarkan contoh teknik *bioventing* secara umum.



Gambar 2.5 Teknik bioremediasi dengan *bioventing* (Sumber: EPA 2006; National Research Council 1993)

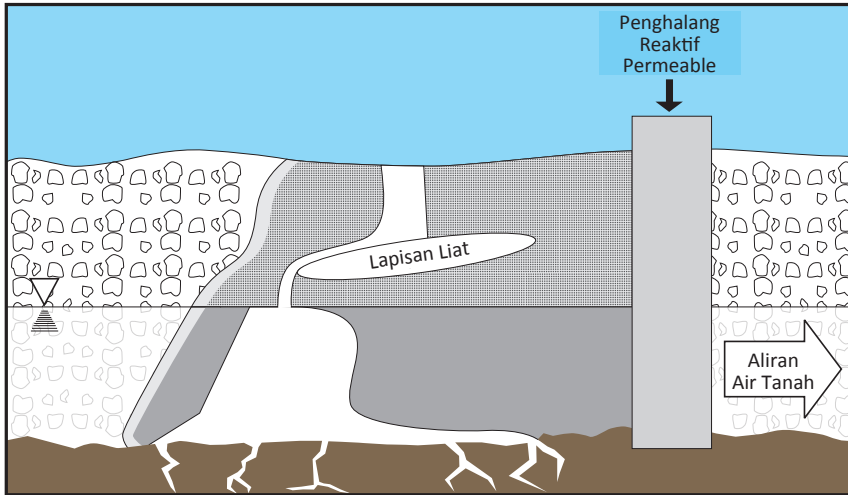
2.4.1.2.2. Bioremediasi pada Air Tanah dan Zona Tanah Jenuh

Aplikasi bioremediasi pada zona ini dapat dilakukan dengan membuat penghalang reaktif biologi, *biosparging*, dan *bioslurping*. Penghalang reaktif biologis terletak pada zona tertentu yang aktif melakukan proses bioremediasi, memanfaatkan mikroba aerobik dan anaerobik.

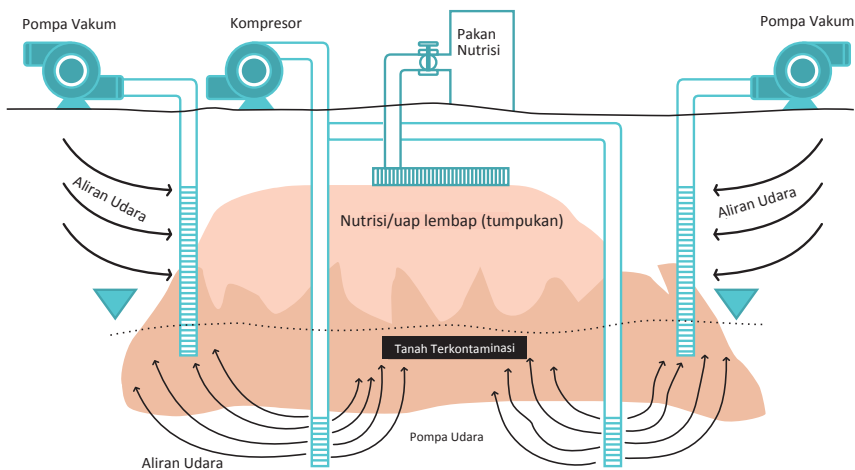
Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

Materi penghalang tersusun atas campuran pasir, nutrisi (bahan organik seperti pupuk kandang, kompos), dan materi lain yang bersifat oksidator atau reduktor. Kontaminasi akan terurai ketika air tanah melewati dan terperangkap dalam penghalang reaktif biologis (Gambar 2.6).



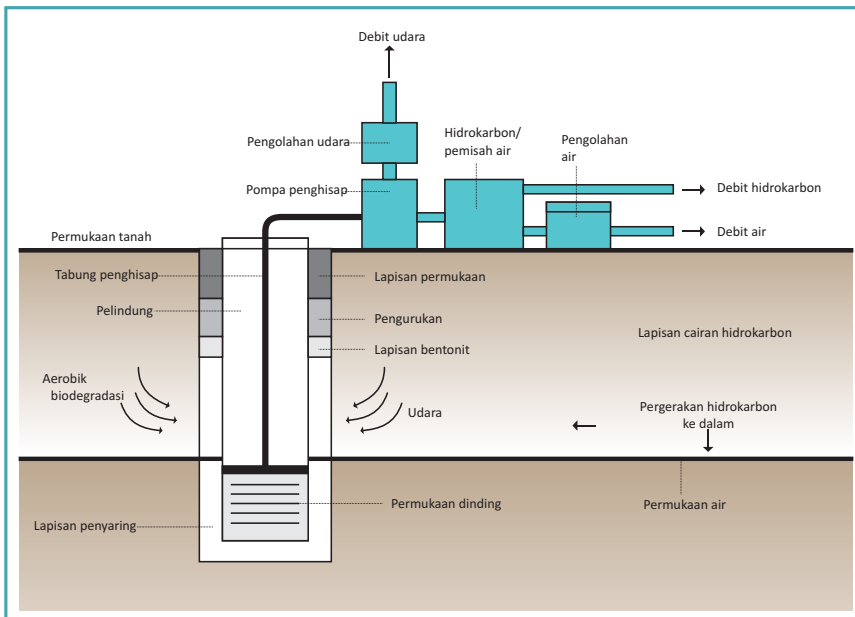
Gambar 2.6 Teknik bioremediasi dengan penghalang reaktif biologis (Sumber: EPA 2000)



Gambar 2.7 Teknik bioremediasi dengan *biosparging* (Sumber: National Research Council 1993)

Biosparging melibatkan injeksi gas (baca: oksigen) ke dalam air tanah (Gambar 2.7). Injeksi juga terkadang dikombinasikan dengan penambahan beberapa nutrisi. Mikroba akan menjadi aktif dan laju penguraian meningkat. Melalui teknik ini kontak antara tanah dan air tanah akan meningkat (Vidali 2001).

Bioslurping merupakan penggabungan teknik *bioventing* dan vakum (Gambar 2.8). Teknik ini sangat cocok digunakan untuk jenis senyawa kontaminan yang mengapung di atas permukaan air dan mudah menguap. *Bioventing* merangsang mikroba aerobik tanah menjadi aktif, sementara vakum menghisap uap (kontaminan yang mudah menguap) menuju sebuah perangkat atau pemisah. Penghisapan ini mampu meningkatkan aerasi dalam tanah sehingga proses penguraian secara aerobik dapat meningkat (Miller 1996). Keterbatasan yang menonjol dari teknik ini adalah aplikasinya yang terbatas sampai kedalaman 25 meter (EPA 2006).



Gambar 2.8 Teknik bioremediasi dengan *bioslurping* (Sumber: EPA 2006)

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

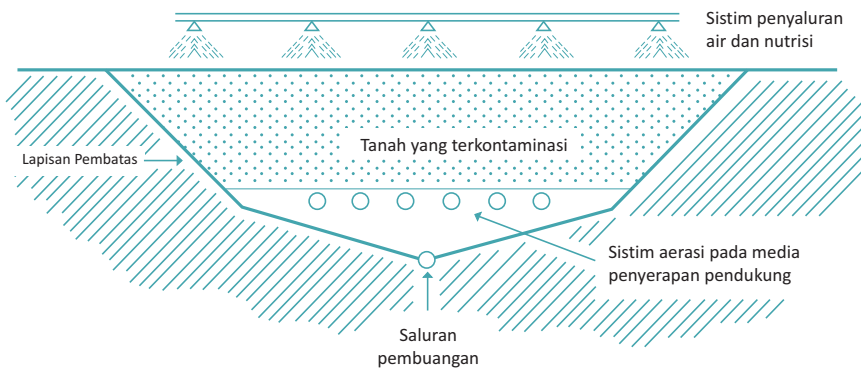
Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

2.4.2. Bioremediasi *Ek-situ*

Melalui bioremediasi *ek-situ*, matriks yang terkontaminasi harus dipisahkan dan diangkut ke tempat lain. Di tempat yang baru ini, beberapa perlakuan diberikan. Bioremediasi *ek-situ* yang dikembangkan sangat tergantung dari matriks yang terkontaminasi, apakah berupa tanah, campuran antara air dan tanah (*slurry*) serta air. Uraian di bawah akan difokuskan pada pembahasan tentang teknik bioremediasi *ek-situ* pada matriks tanah. Tiga teknik bioremediasi *ek-situ* yang umum digunakan untuk tanah yang terkontaminasi adalah *landfarming*, *composting*, dan *biopiles*.

2.4.2.1. *Landfarming*

Landfarming atau juga disebut mekanisme pengolahan tanah mengandalkan mikroba aerobik sebagai agen pengurai (Gambar 2.9). Teknik ini sangat cocok untuk penguraian jenis senyawa kontaminan yang memiliki sifat fisika tidak mudah menguap. Pengolahan tanah dilakukan secara periodik dengan harapan agar mikroba aerobik secara aktif hidup dan melimpah. Perlakuan berupa pengendalian kelembapan, penambahan nutrisi, dan stabilisasi pH diperlukan untuk memfasilitasi tumbuh serta berkembangnya mikroba lokal. Teknik ini merupakan teknik bioremediasi yang paling mudah. Meskipun teknik ini diuraikan pada bagian bioremediasi *ek-situ*, tetapi aplikasi teknik ini dapat diaplikasikan secara *in-situ*.



Gambar 2.9 Teknik bioremediasi dengan *landfarming* (Sumber: Walworth *et al.* 2008)

Mekanisme pengolahan tanah dan pemberian perlakuan sangat bergantung dari jumlah dan tipe senyawa kontaminan. Apabila kontaminan memiliki sifat mudah terurai maka teknik ini sangat cocok untuk diaplikasikan. Ketika kontaminan memiliki sifat yang lebih sulit terurai, seperti PAH, pestisida, atau senyawa organik terklorinasi maka pengujian awal perlu dilakukan untuk menverifikasi dan menentukan teknik pengolahan yang paling sesuai (Walworth *et al.* 2008). *Landfarming* hanya mampu mengurai kontaminan yang berada pada kedalaman 10–35 cm di atas permukaan tanah (Vidali 2001).

2.4.2.2. *Composting* (Pengomposan)

Composting adalah teknik bioremediasi dengan mengkombinasikan tanah tercemar dengan limbah organik yang tidak berbahaya (*bulk agents*), meliputi: limbah pertanian, serasah, jerami, kayu, dan lain-lain. Selama proses pengomposan terjadi, populasi dan jenis mikroba sangat dinamik untuk berubah. Hal ini dikarenakan proses pengomposan terjadi melalui 3 tahap, yaitu mesofilik, termofilik, dan tahap akhir (maturasi). Pada saat awal proses *composting*, bakteri mesofilik sangat dominan dan setelah suhu mencapai lebih dari 40°C, bakteri termofilik dan jamur muncul. Pada saat suhu mencapai 60°C maka aktivitas mikroba akan menurun dan saat suhu kembali normal (baca dingin) mesofilik mikroba kembali aktif (McKinley, Vestal 1985).

2.4.2.3. *Biopiles*

Biopiles dapat dikatakan sebagai teknik bioremediasi yang merupakan perbaikan dari teknik *landfarming* dan *composting*. Pipa-pipa di-*setting* sedemikian rupa pada tumpukan kontaminan sehingga aerasi menjadi meningkat. Dengan demikian *indigenous* mikroba terstimulasi untuk tumbuh secara aktif. *Biopiles* sangat cocok diaplikasikan di mana kontaminan berada pada lapisan atas (Vidali 2001). Pipa aerasi ditempatkan pada kedalaman 2–3 meter, sementara tanah terkontaminasi berada di atasnya. Laju aliran udara yang diberikan harus diatur untuk mengoptimalkan proses degradasi dan mencegah terjadinya penguapan. Jika konsentrasi kontaminan banyak (tinggi) dan mudah menguap, tanah terkontaminasi harus ditutup rapat. Mikroba yang hadir adalah mesofilik, bekerja pada suhu antara 10–45°C.

2.5. Keuntungan dan kelemahan bioremediasi

Perlu pertimbangan yang matang dalam memilih teknik bioremediasi. Setiap teknik memiliki kekurangan dan kelebihan. Beberapa poin penting dari teknik-teknik bioremediasi terlihat pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Poin-poin penting yang perlu diperhatikan dalam memilih teknik bioremediasi

Teknik	Parameter	Catatan
<i>In-situ</i>	Keuntungan	Biaya lebih efisien, proses terjadi secara alami, tidak merusak, dan brutal
	Keterbatasan	Membutuhkan rekayasa lingkungan, waktu, evaluasi, dan kontrol yang sulit
	Faktor pertimbangan	Ketersediaan mikroba <i>indigenous</i> yang memiliki kemampuan untuk proses penguraian, keberadaan ion metal dan anorganik, parameter lingkungan, kemudahan kontaminan terurai, keterlarutan kontaminan, distribusi, dan pergerakan kontaminan
	Contoh	<i>Bioventing</i> <i>Biosparging</i> <i>Bioaugmentation</i>
<i>Ek-situ</i>	Keuntungan	Biaya efisien dan murah dibanding teknik konvensional
	Keterbatasan	Membutuhkan tempat yang lebih, waktu, memerlukan kontrol hilangnya kontaminan secara fisik, pengangkutan material/matriks, bioavailabilitas yang terbatas
	Faktor pertimbangan	Relatif sama dengan <i>in-situ</i> , bioaugmentasi, toksisitas perlakuan yang akan diberikan, dan toksisitas kontaminan
	Contoh	<i>Landfarming</i> <i>Composting</i> <i>Biopiles</i>

Sumber: Vidali (2001)

Vidali (2001) dan Alvarez, Illman (2006) menjelaskan tentang keuntungan dan kelebihan teknik bioremediasi jika dibandingkan dengan teknik lain, sebagai berikut:

Keuntungan

1. Proses penguraian terjadi secara alami. Populasi mikroba akan meningkat ketika proses penguraian terjadi dan akan menurun ketika proses penguraian selesai. Produk akhir penguraian adalah senyawa yang aman, berupa air dan CO₂.
2. Bioremediasi adalah metode sederhana dan mudah diaplikasikan untuk menguraikan secara permanen berbagai macam tipe kontaminan. Merubah senyawa berbahaya menjadi senyawa yang kurang atau tidak berbahaya. Bukan merupakan proses memindahkan kontaminan dari fase atau matriks.
3. Dapat dilakukan pada lokasi terjadinya pencemaran (*in-situ*), dan tidak menyebabkan kerusakan lain yang lebih parah.
4. Teknologi dengan biaya yang sangat murah, 10 kali lebih murah dibandingkan secara fisika dan kimia.
5. Fleksibel, dan cocok bila dikombinasikan dengan berbagai macam perlakuan dan teknologi lain.
6. Ramah lingkungan (*Environmental friendly*) dan diterima secara luas.

Kekurangan

1. Sangat dibatasi oleh tipe kontaminan yang sulit terurai dan proses penguraian terkadang berjalan lambat.
2. Beberapa hasil penguraian menghasilkan bahan dengan toksisitas yang lebih berbahaya dibanding dengan senyawa awalnya.
3. Memerlukan penanganan yang khusus dan *rijid*. Beberapa faktor perlu dipertimbangkan agar proses penguraian benar-benar berjalan dengan baik. Hasilnya sulit diprediksi atau diinterpolasi. Perlu monitoring evaluasi yang matang dan reguler yang dapat dipertanggungjawabkan.

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

4. Perencanaan yang matang untuk aplikasi bioremediasi dimulai dari identifikasi tipe kontaminan, lingkungan, ketersediaan mikroba lokal, bioavailabilitas, dan biodegradabilitas. Perencanaan dibuat didasarkan dari hasil penelitian awal baik pada skala laboratorium dan juga projek pilot. Tidak ada konsistensi hasil yang diperoleh dari uji coba laboratorium, pilot, dan lapangan. Aplikasi di lokasi tertentu mungkin saja tidak bisa diaplikasikan pada lokasi lain sehingga membutuhkan kajian ulang.
5. Membutuhkan waktu yang relatif lebih lama jika dibandingkan dengan teknologi lain.
6. Belum adanya regulasi yang dapat diterima untuk menetapkan kriteria bioremediasi secara menyeluruh. Persepsi tentang sebuah teknologi baru (baca: belum teruji keberadaannya) mungkin saja memengaruhi pemilihan teknik bioremediasi.

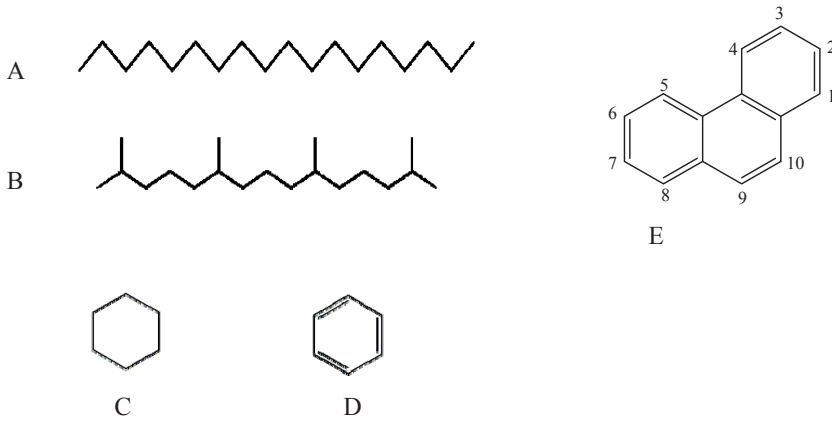
BIODEGRADASI PETROLEUM HIDROKARBON

Petroleum secara harfiah berasal dari bahasa latin, *petra*, dan *oleum*, yang berarti batu minyak atau minyak mentah berupa hidrokarbon yang terdapat di bebatuan sedimen, dalam bentuk gas, cair, semi padat, dan padat. Secara kimiawi minyak tersebut merupakan campuran senyawa hidrokarbon yang sangat kompleks dan hanya sebagian kecil mengandung nitrogen, oksigen, dan logam. Minyak mentah akan diproses melalui proses destilasi, konversi, dan finalisasi produk. Mereka adalah sumber bahan bakar terbesar dari energi dunia (bensin, minyak tanah, minyak diesel, dan bahan bakar jet) dan juga bahan dasar untuk plastik, pakaian, cat, pupuk, insektisida, dan karet sintetis. Senyawa hidrokarbon yang menyusun minyak mentah begitu kompleks, ada lebih dari 10 ribu senyawa. Minyak mentah yang telah diproses menjadi bahan bakar jet masih mengandung lebih dari 300 senyawa hidrokarbon yang berbeda (Alvarez, Illman 2006).

Ditinjau dari sifat kelarutannya (polaritas), minyak mentah dapat dipisahkan ke dalam fraksi alifatik, aromatik, resin, dan aspal (Prince, Walters 2007). Meskipun sudah dipisahkan, mereka tetap mengandung senyawa hidrokarbon yang kompleks (Karlen, Larter 1991). Dari struktur kimianya, fraksi alifatik dipisahkan menjadi alkana (paraffin) dan sikloalkana (Gambar 3.1). Alkana dapat berupa garis lurus atau memiliki cabang dengan formula $C_n H_{2n+2}$. Sikloalkana mempunyai satu atau lebih cincin atom karbon dengan formula $C_n H_{2n}$ (Harayama *et al.* 1999; Hidayat 2013).

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air



Gambar 3.1 Struktur kimia, alifatik: A) garis lurus (*n*-oktadekana), B) cabang (*pristane*), C) siklo (sikloheksan), D) aromatik hidrokarbon (benzene), E) polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH, phenanthrene)

Aromatik merupakan kelompok senyawa yang memiliki paling tidak satu atau dua buah cincin benzene (Gambar 3.1). Struktur kimianya sangat bervariasi, mulai dari yang memiliki berat molekul yang ringan (lebih dari 5 cincin benzene) sampai berat (lebih dari 5 cincin benzene). Resin tersusun dari senyawa nitrogen (N), sulfur (S), dan atau oksigen (O) sehingga disebut juga fraksi NSO. Aspal merupakan fraksi yang sangat kompleks dan banyak digunakan sebagai bahan dalam pembuatan jalan. Aspal sangat sulit terurai karena memiliki luas permukaan yang rendah. Resin dan aspal juga sangat sulit dianalisis dan informasi tentang biodegradabiliti dari senyawa penyusunnya sangat minim (US Congress, Office of Technology Assessment 1991). Selanjutnya, fraksi alifatik dan aromatik merupakan fraksi non-polar, sementara resin dan aspal merupakan fraksi polar non-hidrokarbon. Alifatik adalah senyawa paling banyak terkandung dalam minyak mentah (Hidayat, Tachibana 2012) dan aromatik menempati urutan kedua setelahnya. Komposisi setiap fraksi sangat tergantung dari kualitas minyak mentah, semakin baik jika kandungan fraksi resin dan aspalnya minimal.

Begitu luasnya manfaat minyak mentah, terutama semenjak tahun 1859 pada saat pertama kali eksploitasi bahan ini berhasil dilakukan. Sampai sekarang pemanfaatannya terus berkembang dan berperan secara signifikan dalam dunia industri modern. Meskipun beberapa protokol dan regulasi telah mengaturnya, tanpa disadari dengan mendominasinya produk petroleum telah menyebabkan penyebaran sejumlah limbah atau ceceran minyak ke lingkungan dan ekosistem di seluruh dunia baik yang disengaja atau yang terjadi secara alami (Adekunle, Adebambo 2007; Ojumu *et al.* 2004). Total ceceran minyak mentah secara global ke lingkungan terus akan terjadi dan diperkirakan terjadi sebesar 9,1 juta ton per-tahun (National Research Council 2003). Ceceran limbah terbesar terjadi pada lingkungan perairan laut dan sekitarnya. Dapat disenaraikan bahwa aktifitas manusia mulai dari proses eksploitasi sampai proses pemanfaatannya, seperti pada proses pengeboran dan manufaktur, tumpahan selama pengangkutan (kapal tanker yang bocor akibat gesekan benda dalam laut menyebabkan badan kapal atau tanki minyak bocor), ceceran limbah buangan, penggunaan oleh konsumen, dan secara alami (rembesan dari sumber minyak, *naturally seeps*) menyebabkan lingkungan menjadi terkontaminasi.

Sebagai daerah maritim, wilayah perairan Indonesia merupakan jalur perdagangan yang sibuk, termasuk jalur lalu lintas kapal tanker yang mengangkut berjuta-juta ton barel minyak mentah. Kondisi seperti ini menjadikan Indonesia sebagai wilayah yang sangat rawan tercemar tumpahan minyak mentah. Apabila minyak mentah tercecer atau tumpah di lautan maka sudah dapat dipastikan bahwa lingkungan akan segera tercemar. Minyak akan mengapung di atas permukaan air. Arus laut akan menyebabkan minyak mentah tersebut tersebar ke mana-mana termasuk daerah pantai, mangrove, dan air payau. Ekosistem laut akan terganggu dan bahan ceceran dapat bersifat *lethal* (mematikan) maupun *sublethal* (menghambat pertumbuhan, reproduksi, dan proses fisiologis lainnya) terhadap terumbu karang, mangrove sampai dengan biota air lainnya. Sampai saat ini, tumpahan minyak mentah di Indonesia tercatat dan terjadi di Provinsi Kalimantan Timur, Riau, dan Jawa Barat. Pada tahun 1999, 4000 barrel minyak mentah tumpah dari

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

Kapal Tanker (MT *King Fisher*) di Laut Cilacap–Jawa Tengah. Kemudian, pada tahun 2009 tumpahan minyak terjadi di Manyar, Gresik–Jawa Timur. Tahun 2014, tumpahan minyak terjadi di daerah Indramayu dan sepanjang 7 km garis pantai tercemar. Pada tahun yang sama, 200 barrel minyak mentah dari bocornya sumur di Bakau Area 07, baik yang berbentuk minyak dan lumpur masuk ke sungai serta rawa di Kabupaten Siak–Riau. Diprediksi masih banyak kasus-kasus penceraan minyak di Indonesia akan terjadi secara periodik ke depan. Senyawa penyusun minyak tersebut merupakan senyawa berbahaya dan harus menjadi pusat perhatian karena sangat merugikan dan berpotensi karsinogenik, mutagenik, dan toksik bagi kehidupan di alam.

Ketika penceraan pencemar tersebut masuk ke dalam jaringan tubuh organisme, bahan-bahan tersebut berpotensi untuk terakumulasi sehingga dapat membahayakan bagi kesehatan, tidak hanya bagi dirinya tetapi juga dapat berdampak sangat luas. Oleh karena itu, penanganan tumpahan minyak harus dilakukan dengan cepat dan tepat. Cepat artinya mencegah terjadinya penyebaran yang lebih luas dan tepat artinya pencegahan jitu yang memerlukan biaya murah tetapi efektif. Beberapa metode penanganan yang dapat dilakukan adalah insinerasi, solidifikasi, *thermal desorption*, dan pencucian, namun metode tersebut berbiaya sangat mahal. Berbeda halnya bilamana metode bioremediasi yang dipilih dengan pemahaman bahwa metode ini menjadi sangat menarik karena meskipun beberapa polutan dapat terabsorpsi dan terphotolisis, namun proses penguraian terbesar terjadi secara alami dengan melibatkan mikroba yang bersifat lebih ramah lingkungan, murah, dan lebih diterima oleh masyarakat madani.

Beberapa aspek penting yang memerlukan pemahaman esensial sehubungan dengan proses biodegradasi bahan petroleum hidrokarbon akan diuraikan pada bagian berikut.

3.1. Karakteristik Tumpahan Minyak pada Air dan Tanah

Ceceran minyak mentah berupa petroleum hidrokarbon merupakan jenis kontaminan yang paling serius mencemari lingkungan baik pada tanah dan air. Owens *et al.* (2007) menjelaskan bahwa ceceran minyak mentah yang mengkontaminasi tanah dan air memiliki karakteristik unik, seperti terlihat pada Tabel 3.1. Pemahaman tentang karakteristik ceceran minyak pada daerah terkontaminasi sangat penting agar program bioremediasi yang akan diaplikasikan dapat berjalan dengan baik dan tepat sasaran.

Tabel 3.1 Karakteristik ceceran minyak yang mengkontaminasi tanah dan air

Tanah	Air
1. Pergerakannya perlahan bahkan relatif statis	1. Bergerak dengan cepat, pergerakan dibantu angin dan arus atau gelombang air
2. Mudah dilokalisasi atau dikumpulkan	2. Menyebar dan meluas
3. Lokasi penyebaran sempit dan sangat mudah diidentifikasi	berjalan dengan waktu pada permukaan air
4. Minyak tipe tertentu menyebar pada lapisan tanah dan membentuk genangan	3. Lokasi tercemar sulit dilokalisasi
5. Penurunan konsentrasi kontaminan melambat setelah 24 jam	4. Dekomposisi dan emulsifikasi berjalan secara dinamis menyebabkan perubahan sifat fisik dan kimia

Sumber: Owens *et al.* 2007

Minyak mentah memiliki kepadatan yang berbeda-beda, yaitu cair, kental, dan mendekati padat. Nilai kepadatan minyak mentah ditentukan oleh API (*American Petroleum Institute*) gravity ($^{\circ}$). Air memiliki API gravity (10°), sedangkan minyak mentah yang memiliki API gravity dibawah 10° akan tenggelam di dalam air. Minyak yang memiliki API gravity di atas 40° disebut minyak mentah yang ringan (*light*) dan yang kurang dari 17° disebut minyak mentah yang berat (*heavy*). Berwarna hijau kecoklatan menuju kehitaman dengan kisaran

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

API gravity 45⁰–17⁰ (Speight 2007). Minyak mentah ringan mengandung komponen senyawa yang mudah menguap dan mayoritas berupa alifatik dan aromatik dengan kandungan fraksi lainnya yang minor. Minyak mentah dengan warna lebih kecoklatan sampai hitam, mengandung fraksi aromatik yang lebih besar dengan peningkatan kandungan fraksi resin dan aspal (Prince, Walters 2007).

3.2. Biodegradasi Petroleum Hidrokarbon

Mikroba, meliputi jamur dan bakteri telah lama teruji mempunyai kemampuan dalam mengurai polutan kelompok senyawa organik. Jamur ditemukan dan bertahan hidup sekitar 5300 tahun yang lalu (Haselwandter, Ebner 1994). Pada ekosistem, jamur adalah mikroba yang berperan sebagai dekomposer utama polimer dari sampah tanaman, misalnya selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Jamur melakukan kegiatan penguraian (dekomposisi) dan berlanjut pada proses mineralisasi, mengeluarkan dan menyimpan beberapa elemen ion. Jamur juga mencapai keberhasilan untuk membuang, mengurai, dan mineralisasi senyawa phenol, petroleum hidrokarbon, PAH, zat pewarna, dan beberapa substrat lainnya (Singh 2006).

Sekitar lebih dari 190 genera jamur dan bakteri memiliki kemampuan dalam penguraian petroleum hidrokarbon (Prince, Walters 2007). Beberapa di antaranya memiliki rentang penguraian hidrokarbon yang luas, namun tidak jarang hanya terbatas pada spesifik hidrokarbon tertentu. Sebagian besar dari mereka menggunakan petroleum hidrokarbon sebagai sumber karbon dan energi alternatif dalam menopang hidupnya.

Jamur *Fusarium* sp. F092 (Hidayat, Tachibana 2012; Hidayat, Tachibana 2013), *Pestalotiopsis* sp. NG007 (Yanto, Tachibana 2013; Yanto, Tachibana 2014a,b), dan *Polyporus* sp. S133 (Ayu *et al.* 2011) mampu menguraiceceran minyak mentah dalam media cair dan tanah. *Fusarium* sp. F092 mampu mengurai minyak mentah tipe 1, 2, dan 3 (1000 ppm) sebesar 98%, 72%, 46% pada media cair bersalinitas (35 ppt, *part per*

thousand) selama 60 hari (Hidayat, Tachibana 2012). Sementara pada media padat (tanah organik), F092 mampu menguraikan minyak mentah tipe-2 sebesar 60%, sedangkan pada media padat (pasir pantai) sebesar 49% (Hidayat, Tachibana 2013). Penguraian aspal, minyak mentah tipe A dan B (1000 ppm) oleh *Pestalotiopsis* sp. NG007 pada media cair adalah sebesar 50% dan 77%. Penguraiannya meningkat pada media cair bersalinitas (35 ppt) menjadi 79%, 98%, dan 80% selama 30 hari (Yanto, Tachibana 2013). Kombinasi kultur *Pestalotiopsis* sp. NG007 dan *Polyporus* sp. S.133 (1:1) mampu mengurai aspal, minyak mentah tipe A dan C berkonsentrasi lebih tinggi (30.000 ppm) sebesar 63%, 68%, dan 59% pada media tanah (Yanto, Tachibana 2014a). *Polyporus* sp. S.133 mampu mengurai minyak mentah dengan konsentrasi 1000, 5000, 7500, 10.000, dan 15.000 ppm sebesar 93%, 46%, 37%, 25%, dan 19% pada media cair, sedangkan pada media tanah penguraiannya terjadi sebesar 26% dari konsentrasi awal 15.000 ppm (Ayu *et al.* 2011). *Fusarium* sp. dan *Pestalotiopsis* sp. adalah jamur yang tergolong non-ligninolitik. *Pestalotiopsis* sp. ternyata mampu memproduksi ligninolitik enzim meskipun pada jumlah yang kecil. Sementara itu *Polyporus* sp. adalah jamur ligninolitik, di mana aktivitas ligninolitik enzim berada pada jumlah yang besar. Proses penguraian di antara dua tipe jamur tersebut akan berbeda karena reaksi enzimatik melibatkan enzim yang berbeda (penjelasan lebih detail tentang penguraian akan dijelaskan pada sub tema di bawah).

Bakteri *Bacillus* sp. mendegradasi minyak mentah (80–89%) dari konsentrasi awal sebesar 5000 ppm selama 5 hari (Margesin, Schinner 2001). Kombinasi kultur *Pseudomonas* sp. PSP01, PSP05, dan *Bacillus* sp. PSP03 (1:1:1) dengan penambahan nutrisi, aerasi, dan *bulking agent* (10%) mampu mengurai minyak mentah sebesar 91% selama 1,5 bulan dari konsentrasi awal 100.000 ppm (Munawar, Zaidan 2013). *Etreptomyces* sp. ERI-CPDA-1 memiliki kemampuan untuk mengurai minyak diesel sebesar 98% dari konsentrasi awal 1000 ppm selama 7 hari (Balachandran *et al.* 2012). *Dietzia cinnamea*, *Hoyosella altamirensis*, dan *Vibrio alginolyticus* yaitu bakteri yang

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

diisolasi dari Teluk Kuwait yang mengurai minyak mentah sebesar 39% (konsentrasi awal 1000 ppm) selama masa 14 hari (Al-Awadhi *et al.* 2012). Bakteri yang dijelaskan di sini adalah kelompok bakteri aerobik, di mana ion oksigen (O₂) sangat dibutuhkan untuk kehidupan mereka. Dengan demikian, penambahan aerasi akan mampu meningkatkan laju penguraian. Tersaji pada Tabel 3.2, jamur dan bakteri pengurai petroleum hidrokarbon.

Tabel 3.2 Jamur dan bakteri pengurai petroleum hidrokarbon

<i>Mikroba</i>	<i>Polutan</i>	<i>Media</i>	<i>Degradasi (%)</i>	<i>Pustaka</i>
Jamur				
<i>Candida lipolytica</i> *	Minyak	Tanah	-	Kulichevskaya <i>et al.</i> 1995
<i>Candida tropicalis</i> PFS-95*	Minyak mentah	Tanah	69 (16 hari)	Ijah 1998
<i>Phanerochaete chrysosporium</i> *	Minyak mentah	Tanah	78 (365 hari)	Yateem <i>et al.</i> 1998
<i>Eupenicillium javanicum</i> *	Minyak mentah	Cair	30 (30 hari)	Oudot <i>et al.</i> 1993
<i>Graphium sp., Tetracoccosporium</i> *	Minyak bakar No. 2 dan No. 4	Cair	Terasimilasi **) (15 hari)	Snellman <i>et al.</i> 1998
<i>Fusarium sp. F092</i>	Minyak mentah tipe 1, 2, 3 (1000 ppm)	Cair	98%, 72%, 46% (60 hari)	Hidayat, Tachibana 2012
	Minyak mentah tipe-2 (1000 ppm)	tanah	49% (60 hari)	Hidayat, Tachibana 2013
		Pasir laut	60% (60 hari)	Hidayat, Tachibana 2012;
				Hidayat, Tachibana 2013
<i>Pestalotiopsis sp. NG007</i>	Aspal, minyak mentah tipe A dan C (1000 ppm)	Cair	50%, 92% dan 77% (30 hari)	Yanto, Tachibana 2013
<i>Polyporus sp. S.133</i>	Minyak mentah (1000 ppm)	Cair	93% (60 hari)	Ayu <i>et al.</i> 2011
<i>Aspergillus ochraceus</i> NCIM-1146	Kerosene (10%)	Cair	77–83% (20 hari)	Saratale <i>et al.</i> 2007
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> DQ8	Minyak mentah (10%) Minyak diesel (2%)	Cair	60% (10 hari) 83%	Zhang <i>et al.</i> 2011
Bakteri				
<i>Bacillus sp.</i>	Minyak mentah (5000 ppm)	Cair	89–90% (5 hari)	Margesin, Schinner 2001

Tabel 3.2 Jamur dan bakteri pengurai petroleum hidrokarbon (lanjutan)

<i>Mikroba</i>	<i>Polutan</i>	<i>Media</i>	<i>Degradasi (%)</i>	<i>Pustaka</i>
<i>Dietzia cinnamea</i> , <i>Hoyosella altamirensis</i> dan <i>Vibrio alginolyticus</i>	Minyak mentah (1000 ppm)	Cair	39% (14 hari)	Al-Awadhi <i>et al.</i> 2012
<i>Pseudomonas</i> sp. PSP01, PSP05 dan <i>Bacillus</i> sp. PSP03 (1:1:1) [konsorsium]***	Minyak mentah (100.000 ppm)	Tanah	91% (45 hari)	Munawar, Zaidan 2013
<i>Etreptomyces</i> sp. ERI- CPDA-1	Minyak diesel (1000 ppm)	Cair	98% (7 hari)	Balachandran <i>et al.</i> 2012
<i>Breviobacterium</i> , <i>Rhodococcus</i> ****	-	-	-	Murygina <i>et al.</i> 2005; Ouyang <i>et al.</i> 2005
<i>Actinomycetes</i> ****	-	-	-	Rahman <i>et al.</i> 2002
<i>Acetobacterium</i> ****	-	-	-	Watanabe <i>et al.</i> 2002
<i>Clostridium</i> ****	-	-	-	Gaylarde <i>et al.</i> 1999
<i>Petrotoga miotherma</i> ****	-	-	-	Bonch- Osmolovskaya <i>et al.</i> 2003

*) Data bersumber dari Singh (2006)

***) Mereka tidak memanfaatkan sebagai sumber karbon dan energi

****) Aplikasi bioremediasi dengan penambahan perlakuan aerasi, nutrisi, dan *bulking agent*

*****) Data bersumber dari Yemashova *et al.* (2007)

3.3. Biodegradasi Fraksi Minyak Mentah

Seperti telah dijelaskan di atas, minyak mentah merupakan kumpulan senyawa yang sangat rumit. Berdasarkan kelarutannya mereka terbagi menjadi beberapa fraksi yaitu alifatik, aromatik, resin, dan aspal (Mishra *et al.* 2001). Berdasarkan sebuah model fisik minyak mentah yang dikembangkan oleh Yanto, Tachibana (2014a), fraksi alifatik berada pada bagian luar senyawa penyusun petroleum hidrokarbon. Sementara fraksi yang lainnya berada di urutan setelahnya, berturut-turut aromatik, resin, dan aspal.

3.3.1. Alifatik

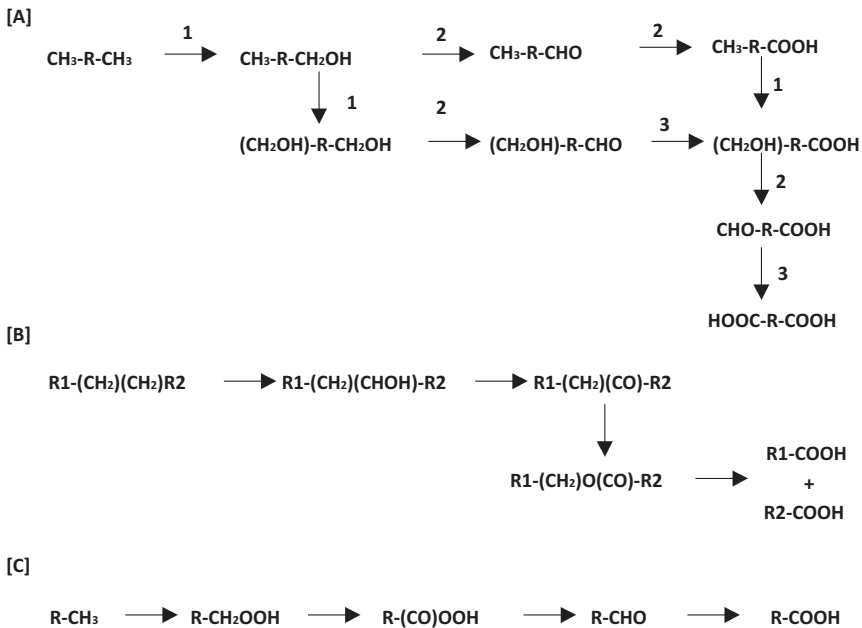
Senyawa alifatik adalah penyusun utama dari minyak mentah. Senyawa tersebut diklasifikasikan ke dalam senyawa yang bergaris lurus (C_nH_{2n+2}), bercabang (C_nH_{2n+2} , $n>3$), dan siklik (C_nH_{2n} , $n>2$). Senyawa alifatik bergaris lurus memiliki jumlah atom karbon C_1 – C_{22} dapat terurai oleh beberapa mikroba dengan mudah. Sementara jika jumlah atom karbon semakin banyak (lebih dari C_{22} , mendekati C_{44}), bercabang, dan siklik sehingga akan sulit terurai, walaupun terjadi maka prosesnya akan sangat lambat (Haines, Alexander 1974). Dalam kasus penguraian alifatik oleh mikroba, jalur penguraian terjadi melalui (Gambar 3.2): 1. terminal oksidasi, 2. subterminal oksidasi, dan 3. via alkil hidroperoksidase. Degradasi terminal oksidasi n -alkana terjadi pada ujung rantai karbon. Oksidasi gugus CH_3 dimulai dengan bantuan alkana hidrosilase menghasilkan n -alkanol, kemudian dioksidasi dengan enzim alkanol dehidrogenase sehingga terbentuk n -alkanal (Harayama *et al.* 1999). Proses degradasi selanjutnya adalah konversi n -alkanal menjadi *fatty acid* (asam lemak; Van-Beilen *et al.* 1994). Pemecahan senyawa n -alkana melalui jalur subterminal oksidasi menghasilkan alkohol sekunder, keton, dan asam lemak (Whyte *et al.* 1998). Juga, n -alkana teroksidasi menjadi n -akil peroksidase dan selanjutnya terurai menjadi aldehid serta asam lemak (Harayama *et al.* 1999).

3.3.1.1. Jamur

Jalur degradasi n -alkana oleh jamur F092 (*Fusarium* sp.) terungkap secara jelas (Hidayat, Tachibana 2013), dengan n -oktadekana sebagai substrat. Degradasi n -oktadekana (konsentrasi awal = 125 mg/l) terjadi sebesar 89% selama 6 hari. Sebanyak 6 senyawa metabolik yang termasuk kelompok asam karboksilat teridentifikasi, yaitu: asam oktadekanoik, asam heptadekanoik, asam heksadekanoik, asam pentadesanoik, asam tetradekanoik, dan asam dodekanoik. Melalui penambahan zat aditif yang berfungsi sebagai penghambat aktivitas enzim, *perak nitrat* ($AgNO_3$) penghambat dioksigenase dan *piperonyl butoxide* (PB) penghambat monooksigenase P-450, menunjukkan bahwa laju degradasi terhambat hanya dengan penambahan $AgNO_3$. Hal ini menunjukkan bahwa dioksigenase memiliki peran yang dominan dalam proses degradasi n -oktadekana. F092 mengkonversi

n-oktadekana menjadi oktadesil hidroperosida dengan bantuan katalisis dioksigenase pada gugus CH_3 dan selanjutnya dioksidasi membentuk *n*-oktadekanal serta asam oktadekanoik (Gambar 3.3) via jalur akil hidroperosidase.

Yanto, Tachibana (2013) mengungkap kemampuan *Pestalotiopsis* sp NG007 yang mengurai *n*-alkana rantai lurus melalui 3 jalur penguraian sekaligus (Gambar 3.4): 1. terminal oksidasi, 2. subterminal oksidasi, dan 3. via alkil hidroperoksidase. Begitu juga *n*-alkana bercabang (*pristane*) mampu diuraikan oleh *Pestalotiopsis* sp NG007 melalui jalur terminal oksidasi dan alkil hidroperoksidase (Yanto, Tachibana 2014b). Sementara Zhang *et al.* (2011), menemukan bahwa *Pseudomonas aeruginosa* DQ8 mampu merombak *n*-dokosana melalui jalur terminal oksidasi dengan bantuan enzim monooksigenase. Jamur lain yang memiliki kemampuan sebagai agen pengurai *n*-alkana adalah jamur yang termasuk dalam genera *Penicillium*, *Aspergillus*, dan *Trichoderma* (Elshafie *et al.* 2007; Husaini *et al.* 2008)



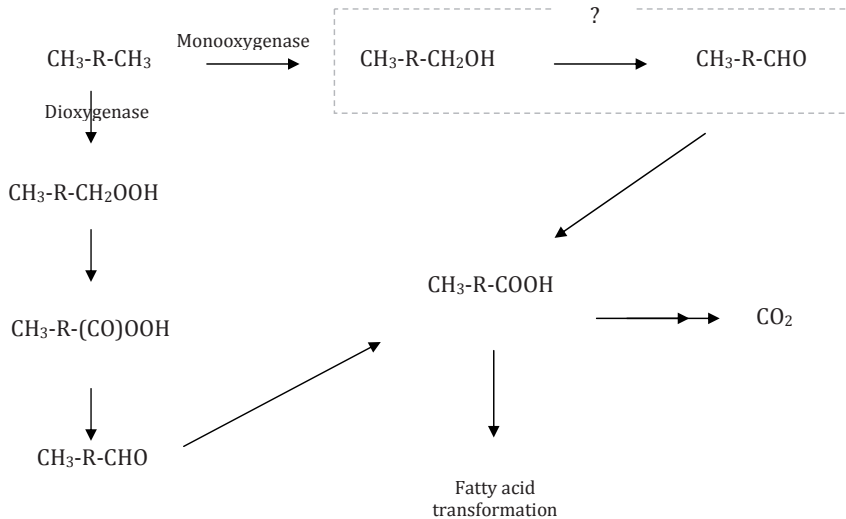
Gambar 3.2 Jalur degradasi alifatik (alkana), terminal oksidasi (A), subterminal oksidasi (B), dan via akil hidroperosidase (C). (Sumber: Harayama *et al.* 1999)

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

3.3.1.2. Bakteri

Bakteria *Rhodococcus* terdeteksi memproduksi beberapa senyawa metabolik melalui konversi di monoterminasi dan terminal oksidasi dari C_2 - C_5 *n*-alkana (Woods, Murrell 1989). Sementara itu beberapa bakteri seperti *Brevibacterium* sp. (Prinik *et al.* 1974) dan *Corynebacterium* sp. (McKenna, Kallio 1971), memiliki kapasitas untuk mengurai *n*-alkana bercabang (*pristane*). Jalur penguraian senyawa alkana bercabang diuraikan dan diulas dengan detail oleh Watkinson, Morgan (1990), melalui ω dan β oksidasi.



Gambar 3.3 Jalur degradasi alifatik oleh *Fusarium* sp. F092 (Sumber: Hidayat, Tachibana 2013)

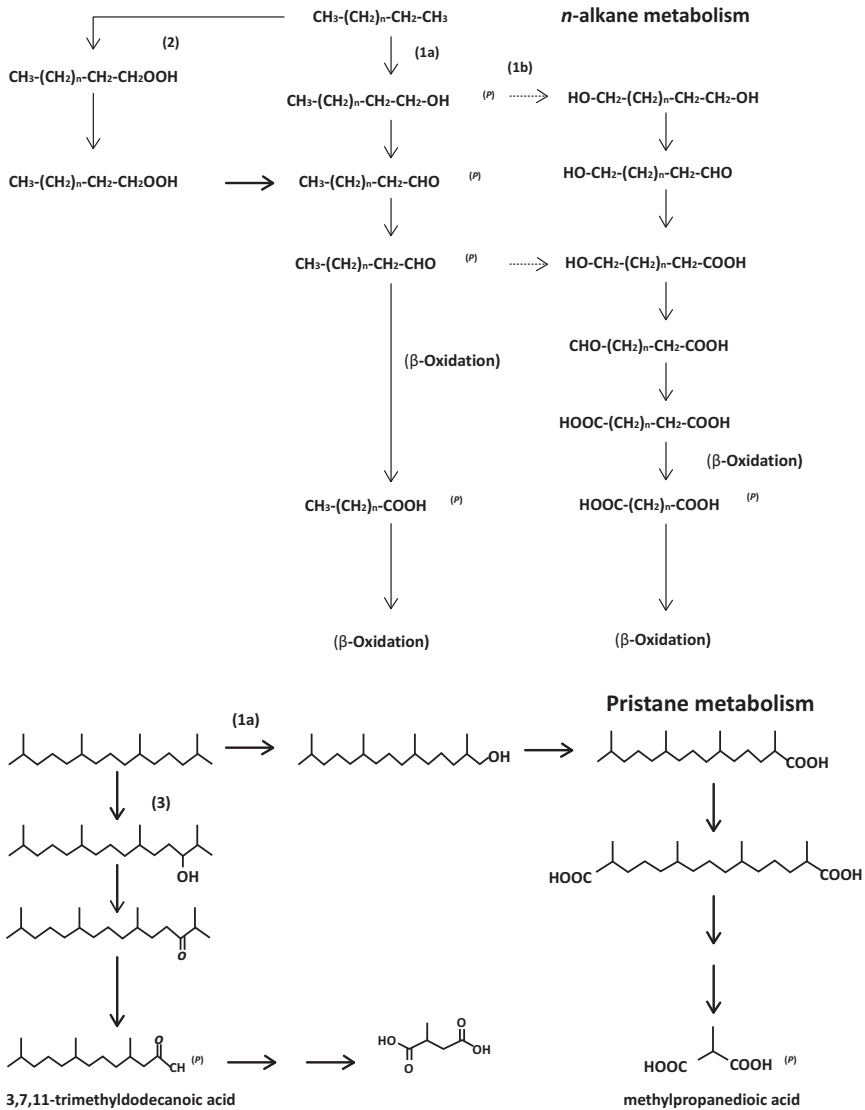
Gram-positif *Actinobacteria*, *Dietzia* sp. HOB yang diisolasi dari tumpahan minyak yang berasal dari tempat pengeboran di Spanyol, mampu tumbuh pada media yang mengandung C_{12} - C_{38} *n*-alkana bergaris lurus dan bercabang (*pristane* dan *phytane*). Proses penguraian senyawa tersebut memunculkan beberapa senyawa metabolik seperti heksadekanol, heksadekanal, dan heksadekanoat (Alonso-Gutiérrez *et al.* 2011). Beberapa bakteri lain yang memiliki kemampuan untuk mengurai senyawa alifatik tersaji pada Tabel 3.3.

Tabel 3.3 Beberapa jenis bakteri pengurai alifatik

Bakteria	Alifatik	Pustaka
<i>Pseudomonas balearica</i> Strain BerOc6	C14-C20	Grossi, <i>et al.</i> 2008
<i>Pseudomonas</i> B17 dan B18	C5-C12	Whyte <i>et al.</i> 1997
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Strain WAtG	C36 dan C40	Hasanuzzaman <i>et al.</i> 2007
<i>Marinobacter</i> sp. BP42	C18	Bonin <i>et al.</i> 2004
<i>Desulfatibacillum aliphaticivorans</i> CV2083T	C13-C18	Cravo-Laureau <i>et al.</i> 2004; 2005
<i>Rhodococcus</i>	C6-C20	Bej <i>et al.</i> 2000
<i>Rhodococcus</i> sp Moj-3449	C12-C18	Binazadeh <i>et al.</i> 2009

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air



Gambar 3.4 Jalur degradasi alifatik oleh *Pestalotiopsis* sp NG007, terminaloksidasi mono-(1a), di-(1b), alkilhidroperoksidase (2), dan subterminal oksidasi (3). (Sumber: Yanto, Tachibana 2014b)

3.3.2. Aromatik

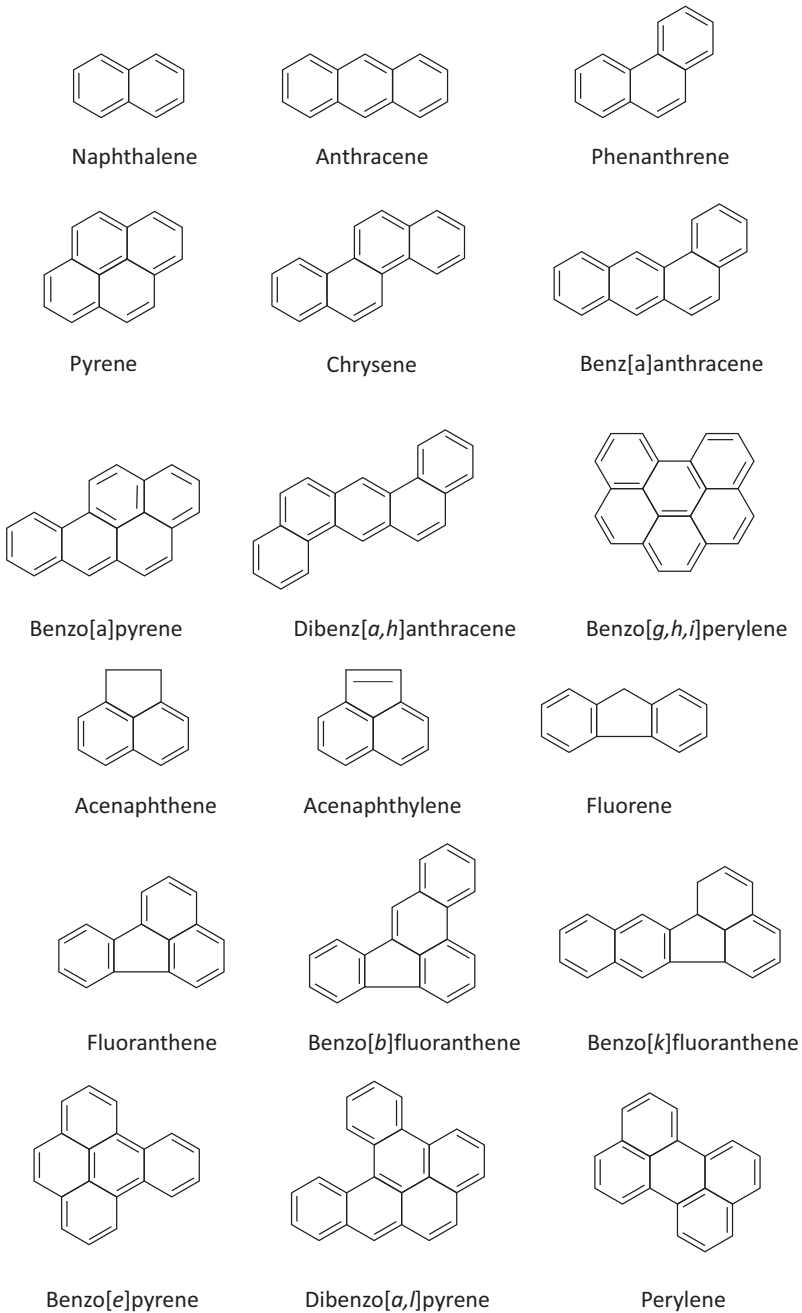
Fraksi aromatik, termasuk PAH adalah senyawa yang memiliki minimal dua cincin benzene, dan merupakan senyawa penyusun minyak mentah terbesar ke dua setelah fraksi alifatik (Hidayat *et al.* 2012). Struktur molekul beberapa PAH terlihat pada Gambar 3.5. Dalam proses penguraian PAH, jalur degradasi yang dihasilkan sangat tergantung dari enzim yang diproduksi oleh mikroba pengurai.

Degradasi PAH oleh bakteri secara umum terjadi via aksi dari enzim dioksigenase yang menghasilkan *cis*-dihidrodiol dan dihidroksi-PAH melalui dehidrogenase sehingga memungkinkan terjadinya pembelahan atau pemecahan cincin benzene (Sutherland *et al.* 1995). Bakteri juga mengkonversi PAH dan menghasilkan *trans*-dihidrodiols dengan laju degradasi yang lebih rendah via aktivitas monooksigenase (Heitkamp *et al.* 1988).

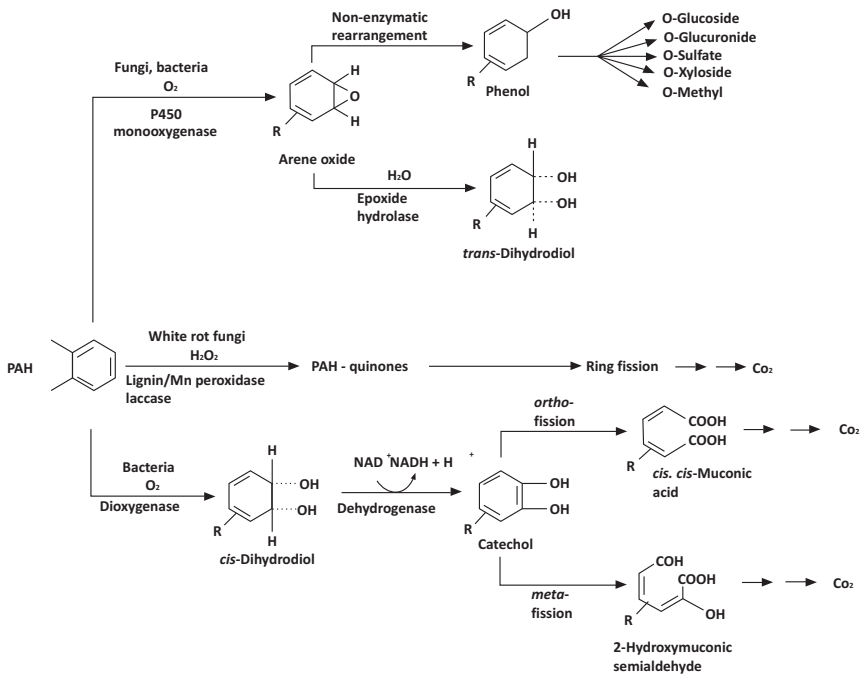
Sementara itu jamur non-ligninolitik mengurai PAH melalui bantuan enzim monooksigenase dan eposide hidrolase sebagai katalis dalam reaksi untuk menghasilkan *trans*-dihidrodiols, phenols, quinon, dan konjugat (Sutherland *et al.* 1995). Jamur yang tergolong ligninolitik mengurai PAH melalui oksidasi radikal non-spesifik dengan bantuan enzim ekstraselular ligninolitik (lakase, lignin peroksidase, mangan peroksidase). Dengan jamur ini umumnya PAH yang akan teroksidasi menjadi PAH quinons dan beberapa di antaranya tidak memproduksi quinon namun menghasilkan PAH dihidrodiol. Hasil metabolik dari PAH tersebut selanjutnya mengalami serangan pada cincin aromatik dan pada akhirnya terbentuk CO₂ (Hammel *et al.* 1992; Hammel *et al.* 1986). Cerniglia (1993) merangkum langkah awal jalur degradasi PAH oleh mikroba seperti terlihat pada Gambar 3.6.

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air



Gambar 3.5 Struktur kimia beberapa polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH)



Gambar 3.6 Jalur awal degradasi PAH oleh mikroba (Sumber: Cerniglia 1993)

Kelarutan PAH dalam air sangat rendah dan PAH tersebut akan terikat kuat dalam sedimen atau tanah sehingga sulit untuk diakses oleh mikroba. Konsentrasi PAH akan terus terakumulasi, bertahan pada kondisi lingkungan tercemar, dan dapat membahayakan lingkungan sekitarnya. Kemudahan mikroba dalam mengurai PAH sangat ditentukan oleh bioavailabilitas PAH dan kehadiran mikroba potensial.

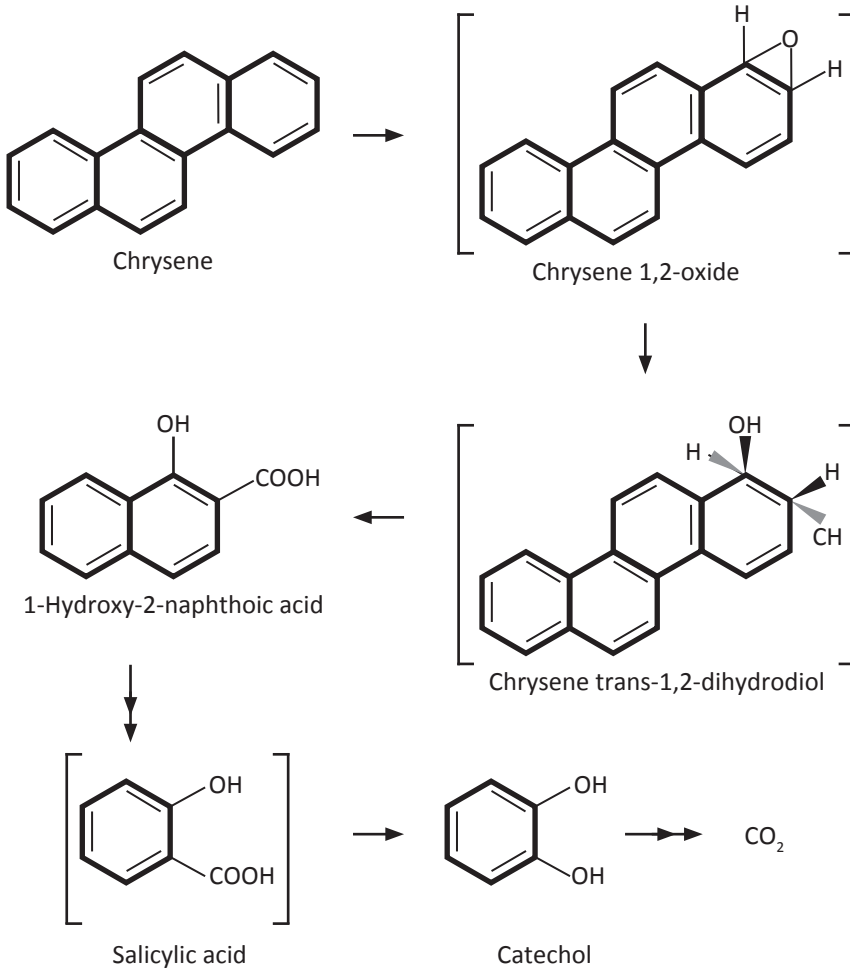
3.3.2.1. Jamur

Fluorene, PAH yang memiliki 2 cincin benzene, mampu diuraikan oleh *Pseudomonas aeruginosa* DQ8 (Zhang *et al.* 2011) dan *Cunninghamella elegans* (Pothuluri *et al.* 1993). Keberadaan *fluorene* (45 ppm) terdegradasi sebesar 41% oleh *Pseudomonas aeruginosa* DQ8 selama 12 hari, di mana beberapa produk metabolik, seperti: *9-fluoreno*l, *9-fluoreno*ne, *3-(1-oxo-2,3-dihidro-1H-inden-2-yl) propanoic acid*,

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

2-(1-oxo- 2,3-dihydro-1H-inden-2-yl) acetic acid, dan *1-indanone* teridentifikasi (Zhang *et al.* 2011). Enzim oksigenase (mono- dan di-) berperan penting dalam proses konversi *fluorene* pada posisi C-9, C-3, dan C-4 (Zhang *et al.* 2011).



Gambar 3.7 Jalur degradasi chrysene oleh *Fusarium sp.* F092. (Sumber: Hidayat *et al.* 2012)

Phenanthrene, PAHs yang memiliki 3 cincin benzene, terurai oleh beberapa jamur seperti *Trametes sp.* RT10 (Hidayat, Tachibana 2014), *Trichoderma sp.* (Hadibarata *et al.* 2007), *Ganoderma lucidum* (Ting *et*

al. 2011), *Polyporus* sp. S133 (Hadibarata et al. 2011), *Anthracophyllum discolor* (Acevedo et al. 2011). Phenanthrene dengan konsentrasi sebesar 10 ppm terurai menjadi 2,8 ppm oleh *Trametes* sp. RT10 selama 15 hari (Hidayat, Tachibana 2014). Sebagai jamur pelapuk kayu, *Trametes* sp. RT10 memproduksi enzim ligninolitik. Hal ini dibuktikan dengan fakta bahwa selama proses penguraian terjadi, aktivitas enzim lakase dan mangan peroxidase menjadi sangat dominan (273 U L^{-1} dan 53 U L^{-1}) (Hidayat, Tachibana 2014). Sebagai bukti lain akan kemampuan *Trametes* sp. RT10, senyawa metabolik esensial dalam proses penguraian phenanthrene yaitu phenanthrene dihidrodiol telah teridentifikasi (Hidayat, Tachibana 2014). Proses pemecahan rantai phenanthrene oleh jamur ini diawali oleh peran dari enzim monooksigenase yang menghasilkan dihidrodiol, enzim peroksidase, dan lakase, kemudian mengkonversi lebih lanjut sehingga dihasilkan senyawa *quinon* (Bamforth, Singleton 2005).

Chrysene, PAHs yang memiliki 4 cincin benzene, tergolong PAHs yang memiliki berat molekul yang tergolong berat seperti halnya *fluanthene*, *pyrene*, *benz(a)anthracene*, *benzo(a)pyrene*, dan *dibenz(a,h)anthrane*. Mereka lebih sulit terurai oleh mikroba, sehingga usaha untuk mencari mikroba yang memiliki kemampuan mengurai senyawa tersebut menjadi tantangan tersendiri. Namun demikian beberapa literatur menjelaskan tentang penemuan jamur yang memiliki kemampuan mengurai *chrysene*, seperti: *Fusarium* sp. F092 (Hidayat et al. 2012), *Polyporus* sp. S133 (Hadibarata et al. 2008), *C. elegans* (Pothuluri et al. 1995), *Syncephalastrum racemosum* (Kiehlmann et al. 1996), dan *Penicillium* spp. (Pinto, Moore 2000). *Chrysene* (125 ppm) sebesar 48% terurai selama 30 hari oleh *Fusarium* sp. F092 (Hidayat et al. 2012). Jalur degradasi diungkap melalui identifikasi senyawa metabolik dan evaluasi aktivitas enzim yang dihasilkan selama proses penguraian berlangsung. Senyawa metabolik yang teridentifikasi antara lain: *chrysene 1,2-oxide*, *chrysene trans-1,2-dihydrodiol*, *1-hydroxy 2-naphtoic acid*, dan *catechol* (Gambar 3.7, Hidayat et al. 2012), di mana enzim yang menunjukkan aktivitas adalah: 1,2- dan 2,3-dioksigenase. Langkah pertama degradasi terjadi melalui bantuan enzim dioksigenase, menghasilkan *chrysene trans-dihydrodiol* (Zhang

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

et al. 2006). *Chrysene trans-1,2*-dihidrodiol dengan menggunakan enzim dioksidase dan dehidrogenase dikonversi menjadi *1-hydroxy 2-naphthoic acid* (Kiyohara *et al.* 1994; Pinyakong *et al.* 2000). *Catechol* terbentuk melalui serangkaian reaksi (meliputi: konversi *1-hydroxy 2-naphthoic acid* menjadi *1,2 dihydroxynaphthalene* dan *salicylic acid*) *aldose* dan hidrosilasi dari *salicylic acid*. Beberapa jamur pengurai PAHs terangkum pada Tabel 3.4.

Tabel 3.4 Beberapa jenis jamur pengurai polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH)

<i>Jamur</i>	<i>PAH</i>	<i>Pustaka</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> DQ8	Fluorane	Zhang <i>et al.</i> 2011
<i>Cunninghamella elegans</i>	Fluorane, Chrysene	Pothuluri <i>et al.</i> 1993; Pothuluri <i>et al.</i> 1995
<i>Trametes</i> sp. RT10	Phenanthrene, chrysene, Benz(a)pyrene	Hidayat, Tachibana 2014
<i>Trichoderma</i> sp.	Phenanthrene	Hadibarata <i>et al.</i> 2007
<i>Ganoderma lucidum</i>	Phenanthrene, pyrene	Ting <i>et al.</i> 2011
<i>Polyporus</i> sp. S133	Phenanthrene, chrysene	Hadibarata <i>et al.</i> 2008; Hadibarata <i>et al.</i> 2011
<i>Anthracophyllum discolor</i>	Phenanthrene, anthracene, fluoranthene, pyrene, benzo(a)pyrene	Acevedo <i>et al.</i> 2011
<i>Fusarium</i> sp. F092	Chrysene	Hidayat <i>et al.</i> 2012
<i>Syncephalastrum racemosum</i>	Chrysene	Kiehlmann <i>et al.</i> 1996
<i>Penicillium</i> spp.	Chrysene	Pinto, Moore 2000
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Anthracene	Ye <i>et al.</i> 2011
<i>Aspergillus sclerotiorum</i> CBMAI 849	Pyrene, benzo[a]pyrene	Passarini <i>et al.</i> 2011
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Phenanthrene	Hammel <i>et al.</i> 1992
<i>Trametes versicolor</i>	Anthracene, benzo[a] pyrene, fluorene	Collin <i>et al.</i> 1996; Johannes 1996; Majcherczyk <i>et al.</i> 1998
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Phenanthrene, fluorene, pyrene, benzo[a]pyrene	Bezalel <i>et al.</i> 1997

Tabel 3.4 Beberapa jenis jamur pengurai polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) (lanjutan)

<i>Jamur</i>	<i>PAH</i>	<i>Pustaka</i>
<i>Bjerkandera sp. strain BOS55</i>	Anthracene	Kotterman <i>et al.</i> 1994
<i>Pycnoporous cinnabarinus</i>	Benzo[a]pyrene	Rama <i>et al.</i> 1998
<i>Crinipellis stipitaria</i>	Pyrene	Lambert <i>et al.</i> 1994
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Benzo[a]pyrene	Wood, Wiseman 1979

3.3.2.2. Bakteri

Bakteri *Mycobacterium sp.* strain PYR-1 berkemampuan untuk menguraikan *anthracene* (0.075 mM) dan *phenanthrene* (0.15 mM) sebesar 92% dan 90% selama masa 14 hari (Moody *et al.* 2001). Selama proses penguraian *phenanthrene*, beberapa senyawa metabolik dihasilkan, di antaranya: *cis-* dan *trans-9,10-dihydroxy-9,10-dihydrophenanthrene*, *cis-3,4-dihydroxy-3,4-dihydrophenanthrene*, *2,2-diphenic acid*, *1-hidroxy-naphthoic acid*, dan *phthalic acid*. Enzim dioksigenase atau enzim lain yang memiliki spesifikasi yang sama dengan enzim dioksigenase merupakan enzim yang dominan dalam melakukan proses katalisasi PAH oleh beberapa bakteri. Mereka biasanya menyerang pada posisi *K-region* dari senyawa PAH (Moody *et al.* 2001). Beberapa bakteri pengurai PAH terangkum pada Tabel 3.5.

Tabel 3.5 Beberapa jenis bakteri pengurai polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH)

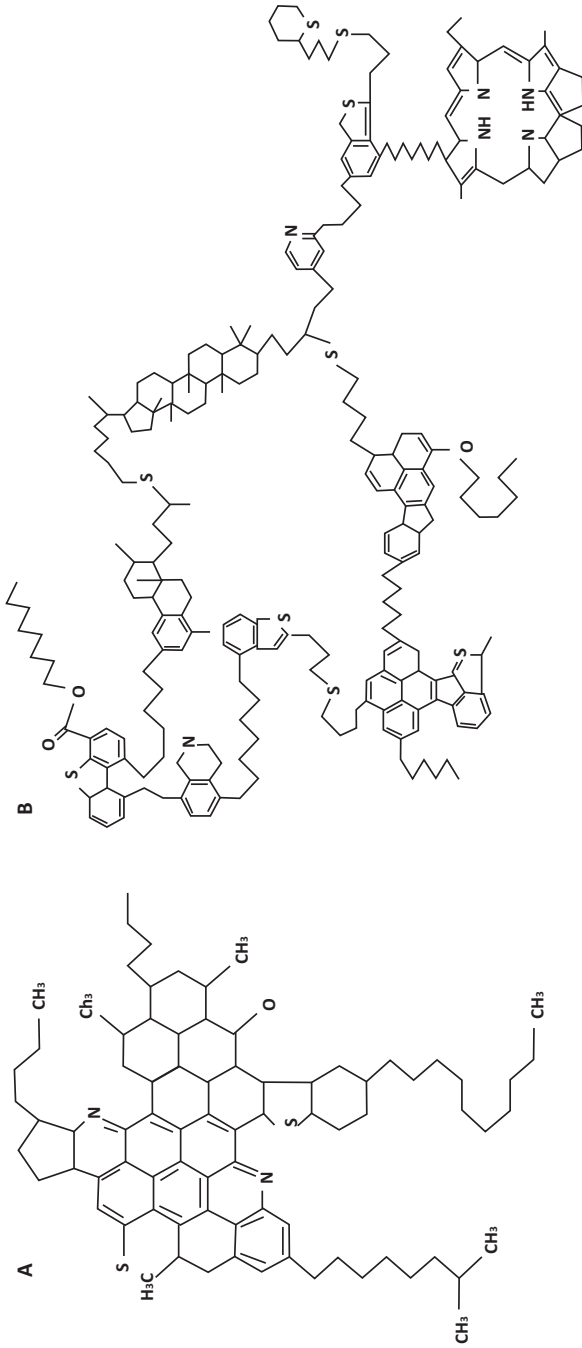
<i>Bakteri</i>	<i>PAH</i>	<i>Pustaka</i>
<i>Mycobacterium flavescens</i>	Pyrene dan fluoranthrene	Dean-Ross <i>et al.</i> 2002
<i>Mycobacterium aromaticarum JS 19b1^T</i>	Phenanthrene	Seo <i>et al.</i> 2012
<i>Rhodococcus spp</i>	Pyrene dan fluoranthrene	Dean-Ross <i>et al.</i> 2002
<i>Rhodotorula glutinis</i>	Phenanthrene	Romero <i>et al.</i> 1998
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Phenanthrene	Romero <i>et al.</i> 1998

3.3.3. Resin dan Aspal

Resin dan aspal dalam minyak mentah merupakan kelompok senyawa yang tidak diinginkan keberadaannya. Susunan senyawa resin dan aspal ikut menentukan kualitas minyak mentah. Semakin sedikit konsentrasi resin dan aspal, permasalahan-permasalahan terkait senyawa ini dapat diminimaliasi, seperti pada proses ekstraksi (pemisahan), pengangkutan, pengolahan, dan aspek ekonomis. Sebagai contoh, ketika pengangkutan dengan menggunakan pipa dan peralatan yang mengandung logam, aspal, dan ion besi dalam kondisi asam akan membentuk “lumpur asphaltenik” sehingga dapat menyumbat arus pergerakan minyak mentah.

Pada awalnya aspal dikenal sebagai residu hasil destilasi, ekstraksi dari pengolahan minyak mentah. Aspal merupakan senyawa hidrokarbon (karbon dan hidrogen) kompleks. Selain karbon dan hidrogen, aspal mengandung nitrogen (0,6–3,3%), oksigen (0,3–4,8%), dan sulfur (0,3–10,3%), serta elemen logam seperti besi, vanadium, dan nikel dalam kondisi yang sangat minor (Tavassoli *et al.* 2012). Struktur molekul aspal masih dalam perdebatan, namun berat molekul senyawa ini berada pada kisaran antara 600–2.000.000 DA (Strauzs *et al.* 1999). Dua model struktur molekul aspal disusun oleh Murgich *et al.* (1999) dan Speight, Moschopedis (1981) yang dijelaskan oleh Pineda-Flores, Mesta-Howard (2001) sebagaimana terlihat pada Gambar 3.8. Berdasarkan model tersebut aspal terdiri dari gabungan dari senyawa aromatik dan alifatik. Dalam sebuah struktur yang utuh aspal akan terdiri dari gabungan 6–20 struktur aromatik yang diikat oleh rantai alkil (Pineda-Flores, Mesta-Howard 2001).

Berdasarkan kelarutannya, senyawa aspal dapat dengan mudah dipisahkan dari sebuah minyak mentah. Aspal adalah senyawa yang larut dalam benzene atau toluene tetapi tidak larut dalam pentane, heksan, dan heptane. Ketika pentane, heksan, dan heptane ditambahkan, endapan aspal akan muncul berbentuk solid dan amorf berupa partikel halus berwarna coklat atau hitam.



Gambar 3.8 Struktur kimia aspal, A) Murgich *et al.* (1999) dan B) Speight, Moschopedis (Sumber: Pineda-Flores, Mesta-Howard 2001)

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

Aspal yang begitu kompleks menyebabkan senyawa ini sulit terurai oleh mikroorganisme. Ketika tumpahan minyak terjadi pada suatu lokasi, akumulasi aspal di lingkungan akan terjadi. Untuk mengatasi permasalahan ini, beberapa metode penguraian baik secara mekanik, kimia, termal, dan pembakaran dapat diaplikasikan. Namun dengan menggunakan metode tersebut dibutuhkan biaya yang cukup besar dan menyebabkan masalah lain dikemudian hari. Upaya penguraian secara biologis untuk aspal masih kurang mendapat perhatian. Padahal bukti dan tanda-tanda awal menunjukkan bahwa mikroba memiliki kemampuan untuk menguraikan mereka. Venkateswaran *et al.* (1995) mendeskripsikan hasil penelitiannya bahwa aspal dapat terurai sebesar 35% secara biologis. Mekanisme penguraian aspal dipercaya terjadi melalui mekanisme penguraian alifatik dan aromatik sebagaimana diuraikan pada sub-bab sebelumnya. Hal yang membedakan terletak pada posisi senyawa alifatik dan aromatik yang bukan merupakan senyawa tunggal tetapi merupakan senyawa penyusun aspal.

Penelitian yang dilakukan oleh Pineda-Flores *et al.* (2004) menemukan bahwa kultur konsorsium bakteri antara *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Staphylococcus*, dan *Corynebacterium* mampu memineralsasi aspal sebagai sumber karbon dan energi alternatif. Bakteri *Pseudomonas* spp TMU2-5, *Bacillus licheniformis* TMU1-1, *Bacillus lentus* TMU5-2, *Bacillus cereus* TMU8-2, dan *Bacillus firmus* TMU6-2, baik secara individu atau gabungan, mampu mengurai aspal sebesar 40-60% (Tavassoli *et al.* 2012). Penelitian yang dilakukan Venkateswaran *et al.* (1995) menunjukkan bahwa mikroba memiliki kemampuan untuk mengurai aspal lebih dari 35%. Sementara itu Yanto *et al.* (2017) melakukan bioremediasi melalui aplikasi biostimulasi dan bioaugmentasi (konsorsium fungi, *Pestalotiopsis*, *Polyporus*, dan *Trametes* (1/1/1)) dapat meningkatkan aktivitas enzim oksidator sehingga laju degradasi aspal dapat dipercepat. Penguraian aspal oleh mikroba secara lengkap terjadi mulai dari pemecahan ikatan alifatik bergaris lurus, diikuti dengan yang bercabang, hetero PAH dan PAH, serta membutuhkan waktu antara hitungan hari sampai 33 bulan (Pineda-Flores, Mesta-Howard 2001). Lamanya jangka waktu

penguraian mengisyaratkan bahwa aspal adalah senyawa hidrokarbon yang benar-benar sangat kompleks meskipun tergolong senyawa yang lebih polar dalam senyawa penyusun minyak mentah.



BIODEGRADASI SENYAWA BERWARNA DAN KLOORINAS

4.1. Senyawa Berwarna

Senyawa berwarna atau dikenal dengan istilah "*dyes*" dapat diperoleh secara alami (pewarna alami) dan buatan (pewarna sintetik). Senyawa atau zat pewarna memegang peran penting dalam beberapa industri modern, seperti industri percetakan, makanan, fotografi, tekstil, cat, farmasi, dan beberapa industri lainnya yang mendukung keberlangsungan hidup manusia. Terdapat lebih dari 10.000 jenis dan tipe zat pewarna yang dipakai dalam industri tersebut (Zongllinger 1991). Pada kasus industri tekstil, sekitar 40% atau setara dengan 700.000 ton/tahun, bahan pewarna menjadi limbah dan mengkontaminasi air limbah buangan menjadi berwarna pekat (Zongllinger 1991; Jin *et al.* 2007). Hanya dengan konsentrasi kurang dari 1 ppm keberadaan zat pewarna di dalam air dapat mengakibatkan populasi mikroorganisme dalam air terganggu dan berefek negatif terhadap rantai makanan dan proses pemurnian air (Ciullini *et al.* 2008).

Di Indonesia perkembangan industri tekstil sangat pesat, tidak hanya terbatas pada skala industri besar, menengah, dan kecil saja melainkan sampai merambah industri rumah tangga. Hal ini didukung oleh data yang dikeluarkan oleh Data Pusat Statistik tahun 2000 yang menunjukkan bahwa kebutuhan zat pewarna meningkat 44.9% dari tahun 1996 sampai tahun 2000. Sebagai negara produsen batik yang ternama di manca negara, Indonesia mengandalkan pemasukan devisa dari sektor ini. Disisi lain proses produksi yang dilakukan, seperti

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

pewarnaan dan pencelupan, telah mengakibatkan meningkatnya pencemaran tidak hanya dikawasan industri tetapi juga masuk ke dalam kawasan perkampungan yang padat penduduk. Secara rata-rata 2–5% dari zat pewarna yang digunakan akan tercuci dalam proses berikutnya dan terjadi hampir pada semua industri tekstil. Sebagai contoh, masalah limbah batik di daerah Pekalongan, di mana air sungai di sekitar kawasan Bauran menjadi kotor dan berbau, begitu juga air sumur menjadi terkontaminasi lebih keruh dan berbau tidak enak. Kasus ini merupakan contoh kasus kecil dan masih banyak kasus-kasus lain yang lebih besar dan mengancam terjadinya pencemaran yang lebih parah dengan kandungan amoniak yang tinggi.

Sampai saat ini pengolahan limbah pada beberapa industri tekstil di Indonesia belum menyentuh pada penyelesaian masalah yang menyeluruh. Pengolahan limbah dilakukan dengan proses pengendapan dan adsorpsi. Padatan yang dihasilkan berupa zat pewarna dan logam berat masih memerlukan proses pengolahan lebih lanjut. Proses lanjutan tersebut berupa penimbunan dan memerlukan biaya yang cukup besar. Proses ini dipercaya oleh banyak pemerhati lingkungan sebagai upaya untuk menghilangkan barang bukti, bukan menyelesaikan permasalahan. Hal ini dikarenakan zat pewarna yang ditimbun atau dibuang masih berbahaya dan belum terurai secara sempurna. Zat pewarna dan turunannya merupakan senyawa yang sangat sulit terurai, bersifat toksik, dan berpotensi karsinogenik terutama yang bergugus amina. Untuk alasan estetika dan toksisitas maka zat pewarna yang mengkontaminasi menjadi bagian perhatian untuk penyelamatan lingkungan.

Mekanisme penguraian zat pewarna secara umum dapat dipisahkan menjadi: 1) bioabsorpsi, pengikatan zat terlarut menjadi bagian dari biomasa tanpa keterlibatan proses metabolik, 2) biodegradasi, penguraian zat pewarna menjadi beberapa produk metabolik dengan reaksi enzimatik, dan 3) bioakumulasi, pengakumulasian melalui metabolisme untuk pertumbuhan sel (Aksu, Donmez 2005). Pengolahan limbah zat pewarna dengan melibatkan peran aktif mikroba menjadi

fokus penelitian dan pengembangan yang menarik akhir-akhir ini. Dengan penguraian oleh mikroba atau dikenal dengan istilah “*Microbial decolorization*” atau biodegradasi, pengolahan limbah menjadi *feasible*, murah, sederhana, dan diterima oleh masyarakat secara luas. Mikroba, meliputi bakteri dan jamur telah dikembangkan dalam upaya pengolahan limbah zat pewarna secara biologis. Reaksi penguraian terjadi melalui reaksi enzimatik yang mengkatalisasi terjadinya reaksi oksidasi–reduksi. Setiap mikroba potensial akan memiliki kemampuan yang berbeda-beda dalam proses penguraian tersebut. Salah satu penentu adalah tipe enzim yang diproduksi oleh mikroba dan sangat bertanggungjawab dalam keberlangsungan proses penguraian. Sebagai contoh pada sistem enzim ligninolitik yang diproduksi jamur pelapuk kayu, secara langsung atau tidak langsung sangat berperan dalam proses penguraian polutan organik (Cerniglia, Sutherland 2001; Potin *et al.* 2004; Singh 2006) termasuk zat pewarna (Asgher *et al.* 2006; Tavaker *et al.* 2006; Hamedani *et al.* 2007).

4.1.1. Jenis dan Tipe Zat Pewarna

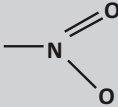
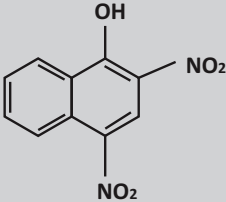
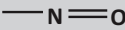
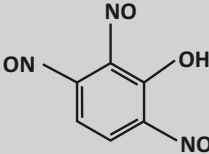
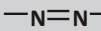
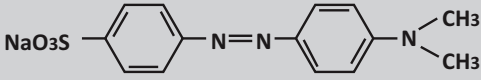
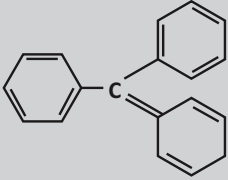
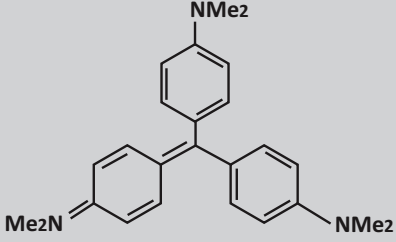
Kurang lebih 10^5 jenis dan bentuk zat pewarna tersedia di pasar dengan tujuan pemanfaatan yang berbeda-beda. Secara umum mereka diklasifikasikan berdasarkan struktur kimia dan penggunaannya. Klasifikasi berdasarkan struktur kimia dibedakan antara lain pada kelompok *Azo*, *Anthraquinone*, *Methane*, *Triphenylmethane*, sementara berdasarkan penggunaannya dibedakan pada kelompok asam (*acid*), reaktif (*reactive*), makanan, obat, dan kosmetik (*food*, *drug*, dan *cosmetic*). Dalam senyawa zat pewarna yang paling penting adalah bagian kromofor. Bagian ini merupakan bagian yang paling sensitif terhadap rangsangan cahaya yang berfungsi sebagai antena untuk menangkap gelombang elektromagnetik pada panjang gelombang tertentu. Kromofor terlokalisasi dengan ikatan ganda terkonjugasi dan mengandung heteroatom (umunya: N, O, dan S) dengan elektron non-ikatan. Berdasarkan keberadaannya bagian kromofor, kelompok-kelompok zat pewarna yang umum tersaji pada Tabel 4.1.

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

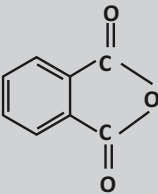
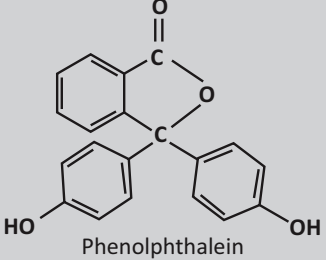
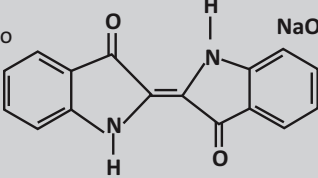
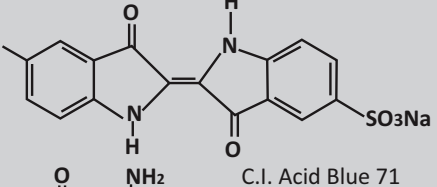
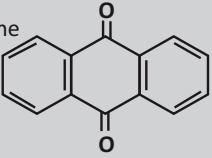
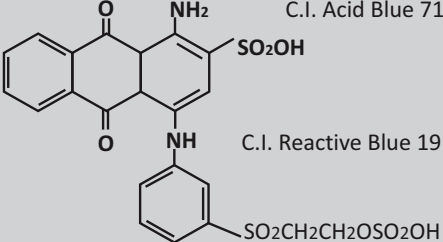
Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

Penting untuk dicatat bahwa kelompok zat pewarna azo merupakan kelompok zat pewarna sintetik yang paling banyak digunakan secara komersial. Mereka menguasai lebih 50% dari produksi zat pewarna di dunia. Kurang lebih 2000 jenis senyawa azo banyak digunakan sebagai pewarna tekstil, makanan, kosmetik, dan tinta untuk printer (Stolz 2001). Namun sayang, zat pewarna azo sangat sulit terurai di alam dan bahkan tidak dapat terurai sempurna meski dilakukan melalui penguraian secara kimia dan fisik (Chung, Cerniglia 1992).

Tabel 4.1 Klasifikasi zat pewarna berdasarkan keberadaan bagian kromofor

Klasifikasi	Contoh
Nitro dyes 	 C.I. Acid Yellow 24
Nitroso dyes 	 Fast Green O
Azo dyes 	 Methyl Orange
Triphenyl-methane dyes 	 C.I. Basic Violet 3

Tabel 4.1 Klasifikasi zat pewarna berdasarkan keberadaan bagian kromofor (lanjutan)

Klasifikasi	Contoh
Phthalein dyes 	 Phenolphthalein
Indigo dyes 	 C.I. Acid Blue 71
Anthraquinone dyes 	 C.I. Reactive Blue 19

Sumber: Ali 2010

4.1.2. Mekanisme Aksi Perombakan

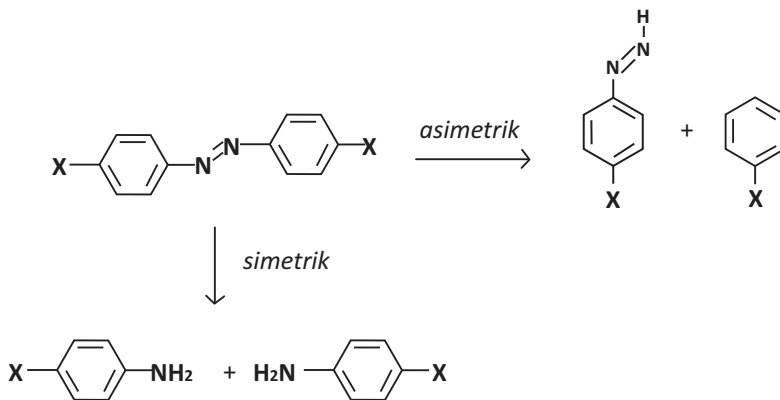
Perubahan warna zat pewarna terjadi melalui mekanisme absorpsi dan penguraian. Absorpsi terjadi melalui proses penyerapan zat pewarna oleh material seperti sel mikroba yang mati. Karena material yang menyerap zat pewarna sebagian besar berasal dari biomaterial maka istilah absorpsi lebih dikenal dengan sebutan bioabsorpsi. Pada proses bioabsorpsi konsentrasi zat pewarna akan berkurang, namun struktur aslinya masih tetap utuh dan tidak terfragmentasi atau hancur. Zat pewarna akan terperangkap di dalam material absorban. Bioabsorpsi bukan merupakan cara yang praktis untuk mengatasi pencemaran zat

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

pewarna dengan konsentrasi yang tinggi pada sebuah industri (Kuhad *et al.* 2004), karena zat pewarna yang terperangkap cukup besar tersebut harus kemudian diolah kembali.

Mekanisme penguraian yang sebenarnya terjadi adalah melalui proses biodegradasi. Zat perwarna akan terfragmentasi secara biologi (reaksi enzimatik) melalui pemecahan struktur kimia. Beberapa produk antara akan dihasilkan (Kaushik, Malik 2009), sehingga mengakibatkan penurunan konsentrasi dan proses perubahan warna menjadi lebih jelas terlihat. Jika penguraian terjadi secara sempurna, maka akan terbentuk CO_2 , H_2O , dan beberapa ion garam inorganik (Ali 2010). Pada uraian sub-seksi ini akan difokuskan pada mekanisme penguraian zat pewarna *azo* dengan beberapa alasan, karena: 1) jenis yang paling banyak tersedia di pasar, 2) paling banyak digunakan, 3) sulit untuk terdegradasi atau terurai, 4) berpotensi karsinogenik dan mutagenik, dan 5) bersifat toksik. Penguraian zat pewarna tipe *azo* sebagian besar terjadi melalui pemecahan pada pusat kromofor ($-\text{N}=\text{N}-$). Pemecahan ikatan *azo* berlangsung melalui pemecahan, baik secara asimetrik dan/ atau simetris menjadi aromatik amina yang tidak berwarna (Gambar 4.1). Namun proses pemecahannya sangat tergantung pada bentuk dan struktur substrat, dan tipe enzim yang berperan didalamnya.



Gambar 4.1 Mekanisme pemecahan ikatan azo, menghasilkan reaksi yang simetris dan asimetrik (Sumber: Andrea *et al.* 2005)

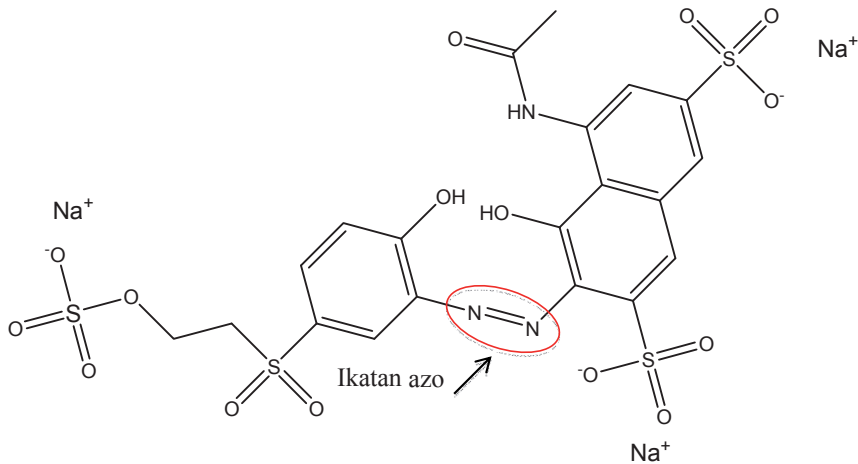
4.1.3. Mikroba Pengurai Zat Pewarna

Berbagai kelompok mikroorganisme: khususnya jamur dan bakteri, memiliki kapasitas untuk mendegradasi berbagai zat pewarna sintetis. Namun kemampuan yang dimilikinya sangat berbeda-beda. Perbedaan itu ditentukan oleh daya adaptasi dan akitivitasnya (Chen *et al.* 2003). Efisiensi proses penguraian memerlukan pemilihan strain yang cocok dengan manipulasi lingkungan yang sesuai untuk mendukung agar proses degradasi berjalan dengan sempurna (Novotny *et al.* 2004).

Pada beberapa kasus penguraian zat pewarna sintetis oleh jamur, strain tunggal jamur pelapuk putih (*white-rot*), merupakan mikroba yang paling efisien dalam melakukan perannya untuk proses penguraian. Jamur tersebut memproduksi enzim yang efisien dalam mengkatalisasi proses pelapukan kayu pada kondisi aerobik. Memproduksi enzim oksidoreduktase (oksidase atau reduktase) yang mengurai lignin dan beberapa senyawa aromatik lain sejenisnya (Nozaki *et al.* 2008). Enzim yang mereka produksi tergolong ekstraselular, lignin perosidase (Lip), mangan perosidase (MnP), dan lakase (Kuhad *et al.* 2004; Enayatzamir *et al.* 2009). Miselia yang dimilikinya berkemampuan untuk melarutkan substrat yang tidak larut dalam air menjadi terlarut dan mudah untuk diurai (Kaushik, Malik 2009). Secara fisik dan enzimatik jamur memiliki bidang kontak yang baik, sehingga lebih toleran pada konsentrasi toksik yang tinggi. Jamur pelapuk juga sangat berperan dalam sirkulasi karbon (*carbon cycle*) sebagai hasil akhir dari proses pelapukan material berlignin di alam. Mereka juga menjadi sangat potensial untuk mengurai beberapa substrat yang sangat sulit diurai oleh bakteri. Jamur pelapuk putih menjadi jamur yang berpotensi untuk melakukan dekomposisi, mineralisasi, dan dekolorisasi zat pewarna. Hal ini karena lignin dan selulosa yang selama ini mereka urai memiliki kemiripan struktur kimia dengan zat pewarna sehingga mereka dapat hidup dan beradaptasi (Forss, Welander 2009).

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air



Gambar 4.2 Struktur kimia Remazol B. Violet (V5)

Remazol B. Violet (V5) adalah zat pewarna berwarna ungu dengan ikatan azo (Gambar 4.2). Pada studi yang dilakukan, *Trametes* sp. RT10 menunjukkan aktivitas untuk mendegradasi V5 dengan konstanta degradasi sebesar 0.78 per-hari (d^{-1}) dan *Cerrena* sp. F0607 sebesar 0.09 d^{-1} (Hidayat, Tachibana 2014, 2015). Sementara untuk tipe zat pewarna lain Levafix Orange E3GA (Or64), Levafix B. Red E-6BA (R159), dan Sumifix S. Scarlet 2GF (R222), *Trametes* sp. RT10 memiliki kemampuan yang lebih untuk mengurai zat pewarna tersebut (0.21, 0.12 dan 0.31 d^{-1}) dibandingkan dengan *Cerrena* sp. F0607 (0.09, 0.12, 0.03, dan 0.22 d^{-1} , Hidayat, Tachibana 2015). Penelitian yang dilakukan Sari *et al.* (2012), menunjukkan bahwa *Trametes versicolor* U97 mengurai Remazol Brilliant Blue R (RBBR) sebesar 50% dan 85% setelah 3 dan 6 hari dari konsentrasi awal substrat 100 ppm. Theerachat *et al.* (2012) melaporkan bahwa enzim yang diekstrasi dari *T. versicolor* DSM 11269 mengurai RBBR lebih tinggi (70% selama 3 hari). *T. versicolor* U97 mengurai Remazol B. Violet (V5), Levafix Orange E3GA (Or64), Levafix B. Red E-6BA (R159), dan Sumifix S. Scarlet 2GF (R222) sebesar 0,75, 0,21, 0,17, 0.45 d^{-1} . Penelitian lebih lanjut tentang kemampuan *T. versicolor* U97 dilakukan oleh Hidayat, Tachibana (2015) dengan menggunakan substrat berupa limbah air berwarna yang dikumpulkan dari industri tekstil. Enzim dan jamur U97 yang diimmobilisasi dalam butiran-butiran Ca-alginat menghasilkan perubahan warna sebesar 48% dan

98% setelah 24 jam reaksi (Hidayat, Tachibana 2015). Jamur U97 yang diimmobilisasi tersebut dapat digunakan atau diulang penggunaannya sampai 5 kali, dengan rata rata penguraian sebesar 83% untuk setiap rekreasi selama 24 jam.

Begitu juga bakteri, penguraian zat pewarna sintetis diawali dengan pemecahan ikatan azo (khusus tipe azo). Dekolorisasi terjadi pada kondisi aerobik dan anaerobik, tergantung pada jenis bakterinya. Penguraian pada kondisi anaerobik terjadi melalui reaksi reduksi dan menghasilkan aromatik amina yang tidak berwarna. Produk aromatik amina hasil pecahan dari ikatan azo sangat karsinogenik, beracun, dan mutagenik (Dawkar *et al.* 2009). Karena sifatnya ini maka produk turunan yang terbentuk harus lebih lanjut diurai. Dengan berpegang pada konsep aerobik dan anaerobik, zat pewarna harus melalui dua phase penguraian, yaitu: 1) phase reduksi menghasilkan aromatik amina dan 2) phase oksidasi dari produk turunan yang dihasilkan dari phase ke-1 (van der Zee, Villaverde 2005). Secara detail mekanisme penguraian zat pewarna azo secara aerobik dan anerobik oleh bakteri dijelaskan oleh Pandey *et al.* (2007). Tersaji pada Tabel 4.2. beberapa mikroba, khusus jamur dan bakteri pengurai zat pewarna, yang dirangkum dari beberapa hasil penelitian.

Tabel 4.2 Beberapa jamur dan bakteri pengurai zat pewarna

Mikroba	Zat pewarna	Tipe	Degradasi (%)	Pustaka
Jamur				
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Reactive Black 5 (100 ppm)	Immobilisasi (bioreaktor)	93% (72 jam)	Enayatizamir <i>et al.</i> 2011
<i>Trametes hirsuta</i>	Direct Black 168, Acid Red 119, Direct Blue 78, Acid Yellow (113, 67, 67, 100 ppm)	Lakase enzim	75%, 50%, 79%, 15% (24 jam)	Couto 2007
	Remazol Brilliant Blue R (100 mg L ⁻¹), Congo Red (12.5 mg L ⁻¹) Lanaset Grey (75 mg L ⁻¹) Poly R-478 (50 mg L ⁻¹)	Lakase enzim (500 U L ⁻¹)	75%, 50%, 0%, 0% (7,5 jam)	Moilanen <i>et al.</i> 2010

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

Tabel 4.2 Beberapa jamur dan bakteri pengurai zat pewarna (lanjutan)

Mikroba	Zat pewarna	Tipe	Degradasi (%)	Pustaka
<i>Rhizopus arrhizus</i>	Reactive Red RB, Reactive Black B, Remazol Blue, Methylene Blue (100 ppm)	Kultur cair	Reactive Red RB (100%, 2 hari), Reactive Black B (100%, 3 hari), Remazol Blue (72%, 8 hari), Methylene Blue 93%, 8 hari)	Gül 2013
<i>Trametes versicolor</i>	Amaranth (10 ppm)	Kultur cair tanpa sel (Lip (0,65 U L ⁻¹), MnP (0,13 U L ⁻¹), lakase (112 U L ⁻¹))	93% (1 jam)	Gavril <i>et al.</i> 2007
<i>Armillaria sp. F022</i>	Reactive Black 5, Brilliant Green, Remazol Brilliant Blue R (100 ppm)	- Kultur cair	- 65%, 30% , 70% (96 jam)	Hadibarata <i>et al.</i> 2012
		- Lakase (0,5 U L ⁻¹)	- 100%, 45%, 100% (96 jam)	
- <i>Cerrena unicolor</i>	TEA (Azo dye-20, 20 ppt), dan TEB (Reactive blue 4, reactive blue 140 base, reactive blue 140, reactive blue 160 base, reactive blue 163, reactive red 11, reactive yellow 145, reactive green 19, 20 ppt)	Kultur cair	- 44%, 76% (6 hari)	Verma <i>et al.</i> 2010
- <i>Corioloopsis byrsina</i>			- 31%, 61% (6 hari)	
- <i>Diaporthe sp.</i>			- 48%, 75% (6 hari)	
- <i>Pestalotiopsis sp</i>			- 58%, 79% (6 hari)	

Tabel 4.2 Beberapa jamur dan bakteri pengurai zat pewarna (lanjutan)

Mikroba	Zat pewarna	Tipe	Degradasi (%)	Pustaka
<i>Trametes trogii</i>	Remazol Brilliant Blue R (50 ppm), Reactive Blue 4 (35 ppm), Acid Blue 129 (83.3 ppm), Acid Red 1 (10 ppm), Reactive Black 5 (18 ppm)	Enzim kasar hasil ekstrasi	85%, 70%, 46%, 90%, 64% (30 menit)	Zeng <i>et al.</i> 2011
	Remazol Brilliant Blue R (133 μM), Azure B (18 μM), Methylene Blue (15 μM), Indigo Carmine (50 μM), Xylidine (47 μM), Fast Blue RR (200 μM), Malachite Green (22 μM), Gentian Violet (14 μM) Bromo-phenol Blue (40 μM).	Kultur cair tanpa sel (110 U mL ⁻¹ lakase; 0.94 U mL ⁻¹ mangan peroxidase)	82%, 11%, 11%, 85%, 13%, 8%, 35%, 29%, 75% (1 hari)	Grassi <i>et al.</i> 2011
<i>Pleurotus sajor-caju</i>	Reactive Black 5, Reactive Orange 16, Disperse Blue 79, Disperse Red 60, dan Disperse Blue 56 (10 ppm), Campuan semuanya (25 ppm)	LiP enzim (45 U g ⁻¹)	84%, 81%, 32%, 47%, 6%, 68% (24 jam)	Singh <i>et al.</i> 2011
<i>Cerrena unicolor</i>	Remazol Brilliant Blue R (100 mg L ⁻¹), Congo Red (12.5 mg L ⁻¹) Lanaset Grey (75 mg L ⁻¹) Poly R-478 (50 mg L ⁻¹)	Lakase enzim (500 U L ⁻¹)	70%, 75%, 22%, 38% (7,5 jam)	Moilanen <i>et al.</i> 2010

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

Tabel 4.2 Beberapa jamur dan bakteri pengurai zat pewarna (lanjutan)

Mikroba	Zat pewarna	Tipe	Degradasi (%)	Pustaka
Bakteri				
<i>Pseudomonas putida</i>	Direct Red 5B (20 ppm)	Kultur cair	81% (96 jam)	Khandare <i>et al.</i> 2013
<i>Alcaligenes faecalis PMS-1</i>	Reactive Orange 13 (400 ppm)	Kultur cair tanpa sel (enzimatik)	100% (16 jam)	Shah <i>et al.</i> 2012
<i>Bacillus sp.</i> ADR	Methyl red, Reactive orange 16, Methyl orange, Congo red, Sudan IV, Reactive red M5B, Direct brown MR, Reactive red 141, Direct brown MR, Eriochrome black T, dan Trypan blue (50 ppm)	Lakase enzim (0.5 U L ⁻¹)	90%, 85%, 68%, ND, 83%, 82%, 80%, ND, 83% ND (12 jam)	Telke <i>et al.</i> 2011
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Victoria Blue R (8–450 ppm)	Kultur cair	77% – 94% (150 menit)	Chen <i>et al.</i> 2011
<i>Proteus mirabilis</i> LAG	Reactive Blue 13 (100 ppm)	Kultur cair	88% (5 jam)	Olukanni <i>et al.</i> 2010
<i>Shewanella oneidensis</i> MR-1	Naphthol Green B (1000 ppm)	Kultur cair (kondisi anaerobik)	95% (24 jam)	Xiao <i>et al.</i> 2012
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> BCH	Remazol red (50 ppm)	Kultur cair	97% (20 menit)	Jadhav <i>et al.</i> 2011

4.1.4. Prospek Perkembangan Teknologi

Mekanisme penguraian zat pewarna dan beberapa mikroba potensial yang berperan didalamnya telah diuraikan secara singkat di sub-bab sebelumnya. Hal ini membuktikan bahwa mikroorganisme adalah anugerah Tuhan yang sangat berharga dan tak terbantahkan dalam menyeimbangkan kondisi lingkungan. Tanaman merubah kimia anorganik menjadi bentuk organik melalui fotosintesis, sementara mikroba berperan sebaliknya; mengkonversi kembali kimia organik (hewan, jasad renik dan tanaman mati) menjadi bentuk kimia

anorganik. Meningkatnya produk dan penggunaan kimia sintetis akhir-akhir ini, mengakibatkan mereka terakumulasi dan menyebabkan penurunan kualitas lingkungan. Kualitas lingkungan yang menurun itu perlu segera dipulihkan. Pemulihan dengan berprinsip pada pemanfaatan mikroba potensial adalah cara yang paling tepat untuk mengatasi masalah dengan tanpa masalah (baca: baik). Mikroba adalah alien berupa reaktor biologis yang mengkonversi produk kimia sintetis (baca: polutan organik) menjadi benar-benar menurun, tidak berwarna, aman dan bahkan menjadi molekul sederhana berupa H_2O , CO_2 serta ion garam. Proses penguraian zat pewarna sangat dipengaruhi banyak faktor seperti: pH, suhu, konsentrasi, kandungan nitrogen dalam medium kultur, kehadiran garam, agitasi, aerasi, dan tipe zat pewarna. Faktor tersebut harus diperhitungkan saat mengaplikasikan metode bioremediasi. Mikroba secara sempurna akan memanfaatkan molekul zat pewarna sebagai sumber karbon, nitrogen dan energi sehingga penurunan konsentrasi polutan terjadi dalam makna yang sesungguhnya.

Akhir-akhir ini penelitian mengarah pada penemuan beberapa peluang pemanfaatan mikroba sebagai agen bioremediasi. Penelitian menuju peningkatan laju dan waktu degradasi yang merupakan tantangan penelitian di masa depan. Selain itu, aspek pengembangan penelitian untuk aplikasi skala besar juga merupakan tantangan yang sangat menarik, karena penelitian yang dilakukan saat ini masih terbatas pada skala laboratorium. Di bawah ini dijelaskan beberapa capaian penelitian sebagai berikut :

1. Melalui isolasi enzim, aplikasi degradasi menjadi sangat mudah dan sederhana. Laju degradasi berkorelasi positif dengan peningkatan konsentrasi enzim yang diaplikasikan (Young, Yu 1997; Schleiphake *et al.* 2000). Enzim dimanfaatkan secara langsung, di mana enzim terlebih dahulu harus diisolasi dan dimurnikan. Enzim lakase dari *Pycnoporus cinnabarinus*, mangan peroxidase (MnP) dari *Trametes versicolor* dan lignin peroxidase (Lip) dari *Phanerochaete chrysosporium* secara cepat mampu (< 1 jam) mengurai zat

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

pewarna (Schlei-phake *et al.* 2000; Champagne, Ramsay 2005; Ferreira-Leitao *et al.* 2007). Laju peningkatan degradasi juga masih dapat ditambahkan melalui penambahan aktivator dan kofaktor enzim.

2. Melalui kultur mikroba, aplikasi ini sangat menjamin bahwa enzim akan tersedia dan tidak rusak. Romero *et al.* (2006) menyebutkan bahwa laju degradasi tertinggi hanya dicapai dengan aplikasi kultur mikroba dibanding aplikasi enzim. Hal ini terjadi karena beberapa produk hasil penguraian akan menghambat secara langsung aktivitas enzim. Sementara, jika menggunakan kultur mikroba, enzim akan terlindungi karena mereka berasosiasi dengan selnya. Begitu juga keberadaan kofaktor akan tersedia secara terus menerus (mikroba memproduksinya). Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Hidayat, Tachibana (2015), di mana aplikasi enzim hanya mampu mendegradasi limbah zat pewarna sebesar 48%, sementara melalui kultur jamur degradasi mencapai 98% dalam kurun waktu reaksi 24 jam. Sementara itu, melalui penambahan kofaktor dan aktivator enzim pada saat aplikasi enzim secara langsung mengakibatkan dampak negatif untuk aplikasi skala besar karena bersifat mutagenik dan karsinogenik (*veratryl alcohol*, *1- hydroxybenzotriazole* (HBT)). Aplikasi enzim atau kultur jamur secara langsung masih menjadi perdebatan karena hasil yang diperoleh tidak selalu konsisten untuk setiap tipe zat pewarna dan strain mikroba yang digunakan. Oleh karena itu, sebelum aplikasi skala pengembangan, riset dasar mutlak diperlukan.
3. Melalui kombinasi dengan absorban, aplikasi ini menggunakan sebuah pendekatan bahwa zat pewarna yang tercecer terlebih dahulu di serap oleh sebuah matrik absorban. Aplikasi ini memungkinkan diterapkan untuk tingkat kontaminasi yang tinggi. Absorban berupa limbah pertanian, seperti: jerami padi atau gandum, serbuk gergaji, tongkol jagung, memiliki kemampuan menyerap zat pewarna 70-75% dari konsentrasi awal sekitar 500 ppm (Nigam *et al.* 2000). Zat pewarna yang telah terabsorpsi dalam sebuah absorban kemudian dijadikan sebagai media tumbuh

mikroba (*P. chrysosporium* dan *C. versicolor*). Jika hasil penguraian berjalan dengan sempurna, maka matrik absoban yang telah difermentasi dapat digunakan sebagai pupuk organik. Namun demikian, meskipun aplikasi ini terlihat sangat sederhana tetapi sebelumnya perlu dilakukan kajian agar hasil yang diperoleh maksimal, aman dan ramah terhadap lingkungan.

4. Melalui *immobilized enzymes (IE) atau mikroba (IMF)*. Teknologi dengan berpijak pada sebuah pendekatan bahwa enzim atau mikroba adalah agen pendegradasi utama. Enzim-enzim pendegrasi diekstraksi/diisolasi atau strain potensial dipilih, kemudian ditraping dalam sebuah butiran *Ca-alginat* atau jenis lainnya. Aplikasi ini sangat cocok untuk diaplikasikan pada bioreaktor sederhana. Penggunaan *IE* atau *IMF* dapat digunakan berulang-ulang, biasanya 5 kali pengulangan.
5. Melalui rekayasa genetik. Pada suatu kondisi tertentu mikroba akan mengalami proses aklimatisasi yang mengarah pada proses evolusi. Kondisi di mana mikroba akan meningkat kemampuannya jika konsentrasi polutan ditingkatkan secara bertahap dan teratur. Mikroba yang tahan terhadap paparan polutan berkonsentrasi tinggi akan mengalami proses evolusi. Mereka akan menemukan dan menentukan mekanisme atau jalur penguraian. Evolusi ini diekspresikan oleh gen pembawa sifat dari enzim yang paling bertanggung jawab dalam proses degradasi. Gen-gen pembawa sifat tadi selanjutnya diidentifikasi, diisolasi dan ditransfer ke mikroba lain agar kemampuannya meningkat. Dengan demikian maka mikroba yang memiliki kemampuan berupa laju dan waktu penguraian yang baik (baca: super) dapat diciptakan (baca: *genetically modified organisme, GMO*). Namun konsep rekayasa genetik ini masih mendapat tekanan dari beberapa ilmuwan, karena mereka khawatir jika mikroba hasil GMO digunakan akan mengakibatkan masalah lingkungan baru dimasa datang.

4.2. Senyawa Berklorinasi

Polutan menjadi pusat perhatian bukan saja karena sifatnya yang toksik (beracun) tetapi lebih dari itu memiliki kecenderungan untuk berada di lingkungan dalam jangka waktu yang lama dan berakumulasi dalam tubuh makhluk hidup (hewan, manusia, dan tumbuhan) dan rantai makanan (*bioavailable*). Sifat tersebut lebih dikenal dengan istilah persisten (*persistent*), bioakumulatif (*bioaccumulative*), dan beracun (*toxic*) (PBT). Salah satu kelompok polutan yang memiliki sifat PBT adalah *persistent organic pollutants* (POPs) yang berpotensi untuk bermigrasi melalui media tanah, air dan udara. Pada tahun 2001 melalui konvensi Stockholm, POPs menjadi kelompok polutan yang harus diperhatikan, karena mengganggu kesehatan manusia dan lingkungan. Beberapa penyakit yang ditimbulkan akibat paparan senyawa POPs adalah penyakit kanker, gangguan jantung, saraf dan sistem reproduksi. Konvensi Stockholm mengharuskan berbagai pihak (baca: negara) untuk mengambil langkah-langkah penyelamatan, seperti: 1) mengurangi produksi dan penggunaan, (2) mengawasi dengan ketat produksi dan penggunaan, dan/atau (3) mencegah pembuangan limbah buangan dengan sengaja.

Sebagai negara agraris, Indonesia menganut pola pertanian intensifikasi yang salah satunya melalui upaya pencegahan dan penanggulangan serangan hama dan penyakit. Namun hal ini mendatangkan masalah baru, karena dapat meningkatkan jumlah dan konsentrasi senyawa berbahaya di alam. Salah satu contoh adalah senyawa *1,1,1-trichloro-2,2-bis(4-chlorophenyl) ethane* (DDT), yang digunakan dalam mengendalikan serangan hama dan penyakit. DDT dan beberapa senyawa turunannya seperti: *1,1-dichloro-2,2-bis(4-chlorophenyl) ethane* (DDD) dan *1,1-dichloro-2,2-bis(4-chlorophenyl) ethylene* (DDE) bersifat PBT. Mereka ditemukan pada air, tanah, sedimen air sungai, dan ikan sebagai residu tak terurai (Aislabie *et al.* 1997). Sifat lain dari DDT adalah lipofilik yang larut dalam lemak, minyak, lipid dan senyawa tidak polar, menyebabkan mereka terdeteksi dalam jaringan tubuh manusia; plasma darah, hati, otak, plasenta dan air susu ibu (ASI) (Tanabe *et al.* 1990; Dale *et al.* 1965).

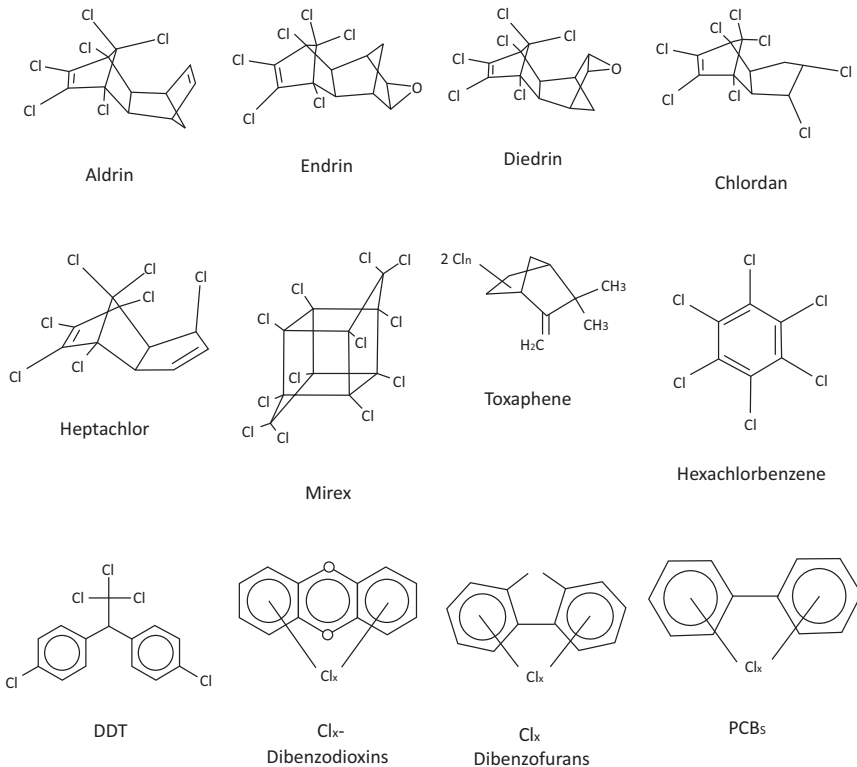
Sebagai negara berkembang Indonesia juga menjadi tujuan investasi industrialisasi modern. Salah satu kota terbesar di Indonesia adalah Surabaya, yang menjadi pusat industrialisasi dan urbanisasi. Industri terpusat pada daerah Ngangel, Tandes dan Rungkut. Beberapa kelompok senyawa POPs ditemukan di sana. Contoh nyata, *Polychlorinated biphenyls* (PCBs) ditemukan dengan konsentrasi 420 ng/g berat kering lapisan sedimen pada Sungai Kali Mas yang berdekatan dengan pusat industri Ngangel (Ilyas *et al.* 2011). Konsentrasi tersebut melebihi konsentrasi yang dipersyaratkan oleh sedimen kualitas standar, contoh: *probable effect level* (PEL, 277 ng/g berat sampel) atau *interim sediment quality guideline standards* (ISQGS, 34.1 ng/g berat sampel). Konsentrasi PCB yang tinggi akan menyebabkan dampak negatif bagi biota air di lokasi tersebut. Sudaryanto *et al.* (2002) secara terpisah mendeteksi keberadaan DDT pada air bersih di beberapa tempat di Kota Surabaya. Kasus lain di negara Kanada, 130 senyawa *polychlorinated dibenzo-p-dioxins* (PCDD) ditemukan pada lahan hutan yang terbakar (Gribble 1994).

Penjelasan di atas menjadi tidak mengherankan jika DDT, PCB, masuk dalam kelompok 12 senyawa dalam konvensi Stockholm pada tahun 2001 (Gambar 4.3), diikuti senyawa lain seperti *aldrin*, *chlordane*, *dieldrin*, *endrin*, *heptachlor*, *hexachlorobenzene*, *mirex*, *toxaphene*, *PCB*, *PCDD*, dan *polychlorinated dibenzofurans* (PCDF) sebagai senyawa kelompok POP. Dalam konvensi tersebut disepakati bahwa setiap pihak harus mampu mencegah, mengendalikan produksi, dan penyebaran senyawa lain yang memiliki sifat menyerupai senyawa POPs. Oleh karena itu, selain 12 senyawa tadi masih banyak bahan kimia lain yang dikaji sebagai kandidat untuk dimasukkan ke dalam konvensi Stockholm oleh masing-masing pihak. Pada konvensi Stockholm pada tahun 2009, kembali sembilan senyawa, seperti: *alpha hexachlorocyclohexane*, *beta hexachlorocyclohexane*, *chlordane*, *hexabromobiphenyl*, *hexabromodiphenyl ether* dan *heptabromodiphenyl ether*, *lindane*, *pentachlorobenzene*, *perfluorooctane sulfonic acid* dan *fluoride*, *petrabromodiphenyl ether*, dan *pentabromodiphenyl ether*, masuk ke dalam daftar tambahan senyawa POPs.

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

Ketika lingkungan terkontaminasi POPs, langkah-langkah penanganan perlu segera dilakukan mengingat sifat POPs yang sangat berbahaya dan sangat merugikan bagi kesehatan. Bahkan beberapa senyawa POPs masuk ke dalam jaringan organisme melalui konsumsi hasil pertanian yang telah terkontaminasi, dan kalau pun terurai produk turunan yang dihasilkan lebih berbahaya dari senyawa induknya. Sayangnya proses penguraian secara alami terjadi dengan sangat lambat, rentang waktu tahunan atau puluh tahun. POPs memiliki bioavailabiliti yang rendah, tidak mudah menguap, berakumulasi (meningkatkan konsentrasinya), dan terjerap dalam pori-pori dan partikel tanah dan sedimen. Keterlibatan mikroba, jamur, dan bakteri dalam proses penguraian tersebut jelas tidak bisa dihindari. Field, Sierra-Alvarez (2008) menjelaskan bahwa penguraian senyawa-senyawa tersebut terjadi melalui proses metabolisme dan co-metabolisma.



Gambar 4.3 Struktur kimia 12 senyawa *persistent organic pollutants* (POPs) hasil konvensi Stockholm 2001

4.2.1. Kelompok Senyawa POPs Berklorinasi

Senyawa POPs sebagaimana disebutkan sebelumnya, mempunyai struktur senyawa kimia seperti dirangkum dalam Gambar 4.3. Mereka didominasi senyawa bergugus klor “berklorinasi”. Di bawah ini diuraikan secara singkat tentang penggunaan dan dampak dari 12 senyawa POPs tersebut:

1. PCB digunakan secara luas sebagai bahan baku untuk industri listrik dan elektronik, seperti: transfonder dan kapasitor; media pertukaran panas, dan sebagai zat aditif untuk plastik dan cat. Paparan PCB mempengaruhi sistem kekebalan tubuh, dan masalah reproduksi. Ditemukan kurang lebih 209 isomer PCB.
2. PCDD adalah senyawa yang kehadirannya tidak diharapkan, biasanya hasil dari pembakaran tidak sempurna, seperti: pembakaran sampah kota dan limbah medis, pembakaran sampah rumah tangga, emisi dari proses pemutihan “klorinasi” pulp dan kertas. Mereka sulit terurai, sebagian akan terurai dalam jangka waktu 10–12 tahun. PCDD meyebabkan masalah bagi kesehatan, cacat permanen pada saat kelahiran, masalah reproduksi, gangguan kekebalan tubuh dan hormonal, serta meningkatkan resiko kanker. Ditemukan kurang lebih 75 isomer PCDD.
3. PCDF, dikenal juga dengan istilah “furan”. Struktur, sumber dan dampak negatif PCDF relatif mirip dengan PCDD. Ditemukan kurang lebih 135 isomer PCDF.
4. DDT, digunakan luas selama Perang Dunia II untuk melindungi tentara dari penyakit diakibatkan oleh serangga, seperti malaria. Tahun 1960–1970 an bahan ini digunakan untuk pola pertanian intensif, dan mengakibatkan populasi burung menurun secara drastis. Paparan langsung DDT pada konsentrasi rendah menyebabkan gejala sakit kepala, mual, muntah, dan kebingungan. Akumulasi DDT dalam tubuh mempengaruhi sistem saraf, meningkatkan resiko tumor, dan kanker.
5. *Aldrin* adalah senyawa penyusun pestisida, digunakan untuk kontrol rayap, cacing pembusuk akar, belalang, dan serangga

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

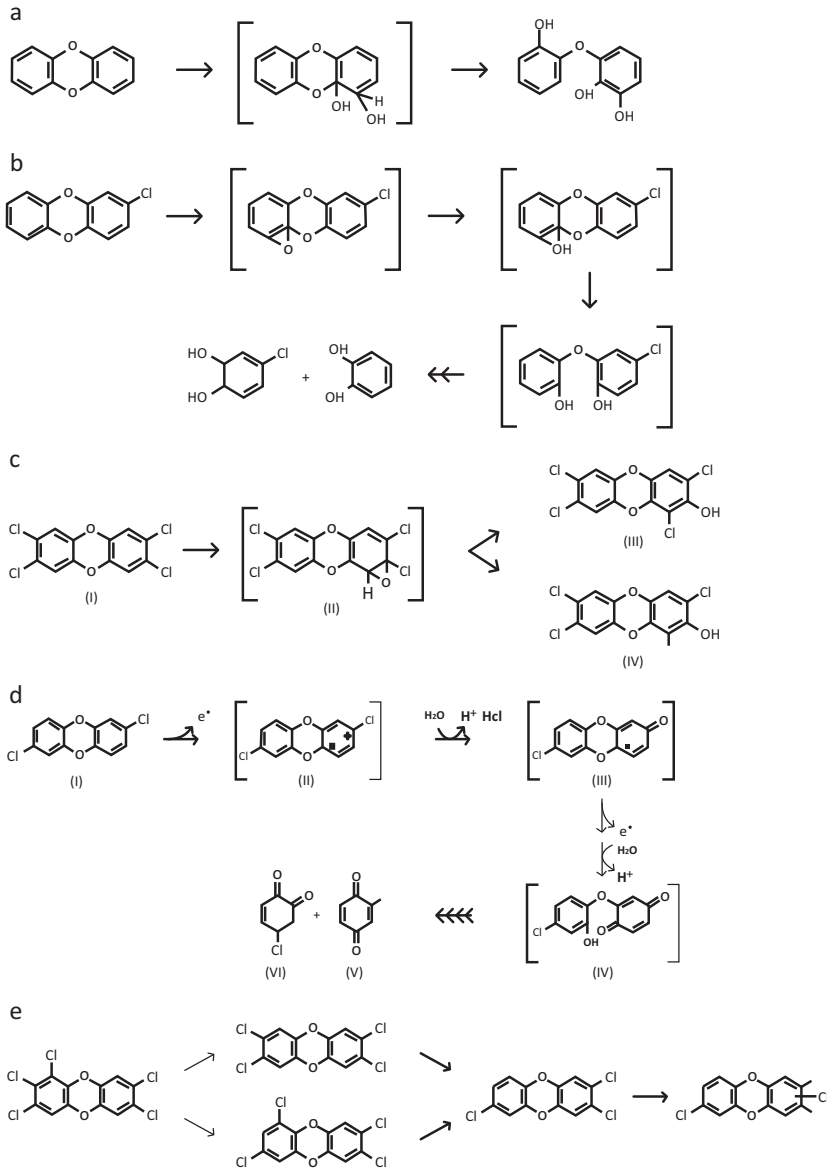
- lainnya. Akumulasi *aldrin* menyebabkan masalah kesehatan yang serius pada manusia, burung dan ikan. *Aldrin* terurai menjadi *Dieldrin* yang merupakan kelompok senyawa POP yang lain.
6. *Dieldrin* adalah senyawa penyusun perstisida, terutama mencegah penyebaran rayap. Mereka sangat beracun terutama untuk burung dan ikan.
 7. *Endrin* adalah senyawa penyusun insektisida, digunakan untuk mengendalikan serangga dan binatang pengerat lainnya. *Endrin* dapat dimetabolisma oleh hewan, namun mereka bertahan di lingkungan sekitar 12 tahun.
 8. *Chlordane* adalah senyawa penyusun insektisida yang paling banyak dipakai untuk mengendalikan rayap. Mereka lebih cepat terurai (rentang waktu 1 tahun). *Chlordane* dengan mudah menyebar melalui udara, dan menyebabkan masalah sistem imun pada manusia.
 9. *Heptachlor* digunakan untuk mengendalikan populasi semut api, rayap, dan nyamuk.
 10. *Mirex* adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan populasi semut api dan rayap. *Mirex* juga digunakan sebagai bagian dari komponen yang tahan bakar pada karet, plastik dan barang-barang elektronik. *Mirex* sangat stabil dilingkungan, dan bertahan hingga lebih dari 10 tahun.
 11. *Toxaphene* adalah insektisida yang banyak digunakan di Amerika Serikat pada tahun 1970. Mereka menggunakan *toxaphene* untuk melindungi produk pertanian seperti, gandum, kapas, dan sayuran. *Toxaphene* bertahan di lingkungan hingga 12 tahun, sehingga menyebabkan kehidupan air sangat terganggu.
 12. *Hexachlorobenzene* (HCB) pertama kali dikenal pada tahun 1940-an. Digunakan untuk melindungi biji-bijian dan membunuh jamur yang merusak tanaman. Mereka dicurigai menyebabkan masalah reproduksi pada manusia.

4.2.2. Mekanisme Aksi Perombakan

Mekanisme aksi penguraian senyawa POP atau senyawa berkonjugasi dengan gugus klor sangat tergantung pada metode penguraian yang digunakan, fisik, kimia atau biologis. Untuk proses secara biologis, sangat ditentukan oleh enzim yang diproduksi, dan mereka berperan aktif dalam proses penguraian yang dimaksud. Secara umum enzim yang diproduksi berperan dalam sebuah reaksi atau perombakan yang sangat kompleks, meliputi hidrosilasi pada posisi tertentu tanpa mengganti gugus klor, hidrosilasi dengan mengganti gugus fungsi lain dengan pemindahan gugus klor, hidrosilasi dengan mengganti gugus fungsi klor, serta melakukan pemecahan dan membuka cincin dioxin (Sakaki, Munetsuna 2010). Dilihat dari hasil reaksi yang dihasilkan, senyawa tersebut (baca: substrat) dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi dan karbon alternatif atau ko-metabolit. Hasil reaksi-reaksi menghasilkan perubahan, perombakan atau penguraian substrat awal menjadi senyawa intermediet, dan hasil akhir berupa air (H_2O) dan karbon dioksida (CO_2). Enzim yang terlibat biasanya adalah dioksigenase, monooksigenase P-450, dan Lip (Sakaki, Munetsuna 2010; Mori *et al.* 2009). Beberapa hasil reaksi akibat peran enzim dioksigenase, monooksigenase P-450, dan Lip terlihat pada Gambar 4.4.

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air



Gambar 4.4 Mekanisme penguraian beberapa senyawa berklorinasi. a) peran dioksigenase; b) peran monooksigenase tanpa mengganti gugus klor; c) peran monooksigenase dengan mengganti dan pemindahan gugus klor dan; d) peran lignin peroksidase; e) peran dehalogenase. (Sumber: Sakaki, Munetsuna 2010)

4.2.3. Mikroba Pengurai

Beberapa mikroba menunjukkan kemampuannya untuk mengurai senyawa beklorinasi. Sebanyak 38 strains dari 11 genera jamur non-lignolitik memiliki kemampuan untuk mengurai PCDF menjadi satu atau lebih isomer monohidrosilat PCDF melalui aksi dari enzim monooksigenase (Hammer, Schauer 1997). Jamur lignolitik, *Phanerochaete chrysosporium* (Joshi, Gold, 1994; Valli *et al.* 1992), *Pleurotus* sp. (Tachibana *et al.* 2005) dan *Phlebia lindtneria* (Mori, Kondo 2002), juga menunjukkan kemampuannya untuk mengurai PCDF. Meskipun jamur *Phlebia lindtneria* tergolong lignolitik tetapi jamur tersebut memulai mengoksidasi PCDDs atau PCDFs dengan bantuan monooksigenase sehingga terbentuk grup *hydroxyl*. *Cerrena* sp. F0607 merombak 2,4,8-TCDF sebesar 54% dari konsentrasi awal 10 ppm selama masa inkubasi 30 hari (Hidayat, Tachibana 2013). 2,4,8-TCDF digunakan sebagai alternatif sumber karbon dan energi bagi pertumbuhan F0607. Mekanisme penguraian 2,4,8-TCDF oleh F0607 relatif serupa dengan *Phlebia lindtneria* (Mori *et al.* 2009). Bakteri, *Terrabacter* sp. strain DBF63 (Monna *et al.* 1993) menunjukan kemampuan untuk menkonversi PCDF sebagai sumber karbon dan energi alternatif, dan PCDD sebagai ko-metabolit. Beberapa jenis jamur dan bakteri yang berpotensi sebagai agen pengurai senyawa berklorinasi terangkum dalam Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Beberapa jamur dan bakteri pengurai senyawa berklorinasi

Mikroba	Polutan	Tipe	Degradasi (%)	Pustaka
Jamur				
<i>Phanerochaete sordida</i> YK-624	PCDF dan PCDD (0,05 ppb)	Kultur cair	14-50% (7 hari), bervariasi tergantung isomer TCDF dan TCDD yang digunakan	Takada <i>et al.</i> 1996
<i>Pseudallescheria boydii</i>	2,3,7,8 TCDD (0,05 ppm)	Kultur cair	76% (60 jam)	Ishii <i>et al.</i> 2009
<i>Trametes versicolor</i> U97	DDT (0,1 mM)	Kultur cair	73% (40 hari)	Sari <i>et al.</i> 2012
<i>Phlebia lindtneri</i>	DDT (25 $\mu\text{mol L}^{-1}$)	Kultur cair	70% (21 hari)	Xiao <i>et al.</i> 2011a

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

Tabel 4.3 Beberapa jamur dan bakteri pengurai senyawa berklorinasi (lanjutan)

Mikroba	Polutan	Tipe	Degradasi (%)	Pustaka
<i>Phlebia brevispora</i>	DDT (25 $\mu\text{mol L}^{-1}$) dan Heptachlor (25 $\mu\text{mol L}^{-1}$)	Kultur cair	30% (21 hari) dan 74% (14 hari)	Xiao <i>et al.</i> 2011a,b
<i>Phlebia tremellosa</i>	Heptachlor (25 $\mu\text{mol L}^{-1}$)	Kultur cair	71% (14 hari)	Xiao <i>et al.</i> 2011b
<i>Phlebia acanthocystis</i>	Heptachlor (25 $\mu\text{mol L}^{-1}$)	Kultur cair	90% (14 hari)	Xiao <i>et al.</i> 2011b
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	DD dan 2,7 DDD (2,5 μM)	Kultur cair	> 50% (1 hari) dan 43% (24 hari)	Joshi, Golf 1994
<i>Gloeophyllum trabeum</i>	DDT (25 $\mu\text{mol L}^{-1}$)	Kultur cair	87% (14 hari)	Purnomo <i>et al.</i> 2008
<i>Fomitopsis pinicola</i>	DDT (25 $\mu\text{mol L}^{-1}$)	Kultur cair	84% (14 hari)	Purnomo <i>et al.</i> 2008
<i>Daedalea dickinsii</i>	DDT (25 $\mu\text{mol L}^{-1}$)	Kultur cair	81% (14 hari)	Purnomo <i>et al.</i> 2008
Bakteria				
<i>Pseudomonas resinovorans</i> strain CA10	2,3-DDD (1 ppm)	Kultur mikroba pada media tanah (10^9 CFU, dengan pengulangan)	59-99% (14 hari)	Widada <i>et al.</i> 2002
<i>Sphingomonas wittichii</i> RW1	237-TCDD (50 ppm)	-	23% (5 hari)	Nam <i>et al.</i> 2006*
<i>Rhodococcus opacus</i> SAO101	27-DCDD (1 ppm)	-	16% (7 hari)	Kimura, Urushigawa 2001*
<i>Dehalococcoides sp. CBDB1</i>	124- TCDD (17,3 ppm)	-	55% (84 hari)	Bunge <i>et al.</i> 2003*

Keterangan: Data pada baris yang diberi tanda asterisk (*) bersumber dari Field, Sierra-Alvarez (2008)

4.2.4. Prospek Perkembangan Teknologi

Uraian yang mempertegas tentang peran mikroba dalam penguraian senyawa berklorinasi dapat dikatakan masih sedikit dibandingkan dengan polutan lainnya. Hal ini dikarenakan sebagian besar senyawa berklorinasi sangat persisten meskipun dalam konsentrasi yang kecil (< 1 ppm). Penelitian-penelitian dengan menggunakan

substrat berkonsentrasi kecil memerlukan alat analisa yang lebih modern, tidak hanya untuk mengidentifikasi substrat induk tetapi juga senyawa turunannya yang konsentrasinya jauh akan lebih kecil dan lebih berbahaya. Namun penelitian tersebut harus dilakukan untuk mengetahui dan mendapatkan informasi tambahan tentang fungsi organisme selama mereka hidup (baca: penguraian senyawa berklorinasi), memanfaatkan dan mentrasformasinya. Melalui pendekatan proteomic, enzim yang berperan dalam degradasi akan terperangkap dalam loci-loci melalui genom (ekspresi protein). Sekecil apapun konsentrasi substrat yang diberikan, responnya akan terlihat bagaimana organisme mengurai, dan menentukan jalur penguraiannya, termasuk memberikan petunjuk bagaimana cara yang dapat dilakukan untuk meningkatkan laju degradasi tersebut. Kesuksesan untuk mengungkap peran mikroba dalam proses penguraian benar-benar harus melibatkan berbagai bidang keilmuan, termasuk bidang biologi molekular.



BAB V

APLIKASI BIOREMEDIASI DI INDONESIA

Segenap warga negara Indonesia berhak hidup sejahtera lahir dan batin, bertempat tinggal dan mendapatkan lingkungan hidup yang sehat (UUD 45, Pasal 28 H ayat (1)). Lingkungan hidup dalam hal ini adalah kesatuan ruang dengan semua benda, daya, keadaan, dan makhluk hidup, termasuk manusia dan perilakunya, yang memengaruhi alam itu sendiri, kelangsungan perikehidupan, dan kesejahteraan manusia serta makhluk hidup lain (UU No. 32 tahun 2009 Pasal 1 ayat (1)). Sebagai unsur lingkungan hidup, sumber daya alam yang dimiliki Indonesia begitu besar, meliputi pertambangan mineral, batu bara, minyak bumi, gas, dan keanekaragaman hayati (flora dan fauna). Mereka adalah sumber pendapatan devisa negara yang cukup menjanjikan. Sebagai contoh, hutan memiliki manfaat yang luas mulai manfaat jasa lingkungan, kayu dan bukan kayu. Kurang lebih 30 tahun yang lalu pemanfaatan Hutan Tropis Indonesia berfokus hanya pada eksploitasi kayu alam. Pemberian izin konsesi, dan pengolahan hasil menghantarkan kita untuk mendapatkan manfaatnya. Dibalik usaha pengelolaan dan perlindungan, hutan telah mengalami kemerosotan baik dalam fungsi dan manfaatnya. Akibatnya ketika hujan turun, banjir pun terjadi di mana-mana, dan ketika kemarau tiba, bencana kekeringan dan kebakaran pun datang. Fenomena ini menjadi sebuah kejadian yang nyata dirasakan langsung oleh kita semua.

Telaah mendalam tentang bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

Berbeda halnya dengan permasalahan yang ditimbulkan dalam pengerjaan usaha pertambangan mineral, batu bara, minyak bumi, gas, industrialisasi modern dan pertanian. Permasalahan lingkungan berupa ceceran kontaminan berbahaya akan timbul dan menjadi masalah yang sangat serius terhadap perubahan lingkungan. Bukan saja dilihat dari segi estetika namun jauh dari itu berakibat negatif terhadap kehidupan dalam sebuah ekosistem dalam arti yang sangat luas, perubahan lingkungan (fisik, kimia & hayati). Sebagai mana telah diuraikan pada bab sebelumnya, tipe dan bentuk cemaran kontaminan sangat banyak dan beranekaragam. Cemaran yang berbahaya atau dikenal dengan istilah limbah B3 (bahan berbahaya dan beracun) memerlukan penanganan khusus melalui upaya pengendalian, pencegahan, pengolahan dan pemulihan. Mereka perlu dikurangi, dan didekomposisi menjadi bahan yang kurang berbahaya sampai menjadi aman. Proses pengolahannya pun bermacam-macam, mulai dari pengolahan secara fisik, kimia sampai secara biologi. Penanganan secara biologis atau dikenal dengan istilah bioremediasi memiliki arti yang tidak sempit. Bioremediasi tidak hanya dapat diaplikasikan terkait pada masalah ceceran minyak, tetapi memiliki makna yang luas. Intinya memulihkan sesuatu yang telah tercemar dengan pendekatan biologis.

Bagaimana dengan aplikasi bioremediasi di Indonesia? Dalam UU No. 32 tahun 2009 tentang lingkungan disebutkan bahwa kalimat remediasi dijelaskan sebagai salah satu cara pemulihan lingkungan tercemar. Pemulihan secara biologis belum tersirat dalam UU tersebut secara jelas. Namun demikian semua upaya pengendalian pencemaran dan kerusakan lingkungan menjadi hal yang sangat diperhatikan oleh pemerintah. Sementara upaya pemulihan menjadi tanggungjawab setiap orang/perusahaan yang berperan dalam perusakan lingkungan. Sebagai contoh ketika hutan dieksploitasi kayunya, maka perusahaan yang melakukan eksploitasi tersebut harus kembali memulihkan melalui penanaman kembali (reboisasi) dan kemudian pemerintah memberi insentif berupa pengembalian dana reboisasi (DR). Begitu juga pada usaha pertambangan Minyak dan Gas (Migas), perusahaan pertambangan akan memperoleh biaya pengembalian (*recovery cost*)

setelah mereka melakukan upaya pemulihan lingkungan tercemar. Bidang usaha pertambangan minyak bumi merupakan bidang usaha yang mendapat prioritas dari pemerintah. Bukan hanya karena kontribusinya dalam penerimaan negara yang besar tetapi juga karena dampaknya yang besar terhadap perubahan lingkungan. Perubahan regulasi tentang cara pemulihan lingkungan tercemar karena kegiatan produksi minyak mentah terjadi pada tahun 2003, dengan keluarnya Kepmen Lingkungan Hidup No. 128 tahun 2003. Perubahan tersebut didasari oleh pertimbangan bahwa limbah minyak bumi memiliki sifat yang khusus. Regulasi tersebut mengatur bahwa cara pemulihan lingkungan tercemar minyak bumi dilakukan secara bioremediasi. Untuk tipe dan bentuk pencemaran lain sebagai akibat dari perkembangan industrialisasi modern, fenomena kebakaran hutan, penggunaan pestisida, membeludaknya keberadaan kendaraan bermotor, penggunaan zat pewarna, senyawa POP (*Persistent Organic Pollutant*) berklorinasi, logam berat, asam tambang dll, belum diakomodir secara jelas dalam regulasi tersebut.

5.1. Dasar Peraturan Terkait Lingkungan dan Bioremediasi

Di Indonesia regulasi tentang bioremediasi tertuang dalam Keputusan Menteri Lingkungan Hidup (LH) No. 128 tahun 2003 (Kepmen LH 128 tahun 2003), "Tentang Tata Cara Dan Persyaratan Teknis Pengolahan Limbah Minyak Bumi Dan Tanah Terkontaminasi Oleh Minyak Bumi Secara Biologis". Secara detail Kepmen ini mengatur tentang (1) izin yang harus diajukan oleh "pemilik" limbah; (2) rancang bangun yang disyaratkan untuk suatu instalasi pengolahan; (3) persyaratan kondisi limbah sebelum diolah, (4) monitoring selama proses biodegradasi; dan (5) persyaratan relokasi tanah setelah pengolahan meliputi pemeriksaan, relokasi dan pemantauan. Beberapa regulasi lain yang berkaitan dengan Kepmen LH 128/2003 adalah:

1. Undang-Undang Dasar tahun 1945;
2. Undang-Undang No. 22 tahun 2001 tentang Minyak dan Gas Bumi;

Telaah mendalam tentang bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

3. Undang-Undang No. 32 tahun 2009 tentang Perlindungan dan Pengelolaan Lingkungan Hidup;
4. Peraturan Pemerintah No. 18 tahun 1999 tentang Pengelolaan Limbah Bahan Berbahaya dan Beracun;
5. Peraturan Menteri Lingkungan Hidup No. 33 tahun 2009 tentang Tata Cara Pemulihan Lahan Terkontaminasi Limbah Bahan Berbahaya dan Beracun;
6. Keputusan Kepala Bapedal No. Kep-3/Bapedal/09/1995 tentang Persyaratan Teknis Pengelolaan Limbah Bahan Berbahaya dan Beracun; dan
7. Keputusan Kepala Bapedal No. Kep-4/Bapedal/09/1995 tentang Tata Cara dan Persyaratan Penimbunan Hasil Pengolahan, Persyaratan Lokasi Bekas Pengolahan, dan Lokasi Bekas Penimbunan Limbah Bahan Berbahaya dan Beracun.

Upaya penanggulangan dan pemulihan kerusakan lingkungan tercemar dapat dilakukan dengan cara lain atau cara yang sama dengan mengikuti perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi (UU No. 32 tahun 2009). Berkenaan dengan itu, pemahaman aspek teori yang dipahami penulis tentang konsep bioremediasi berkaitan dengan Kepmen LH 128/2003 diuraikan di bawah ini. Uraian ini mungkin saja akan berbeda dengan ahli bioremediasi yang lain, namun perbedaan tersebut wajar dan menjadi unik bila ditinjau dari aspek keilmuan yang terus berkembang. Beberapa penjelasan yang penting adalah sebagai berikut:

1. Regulasi bioremediasi merupakan langkah maju untuk mengatasi permasalahan lingkungan tercemar. Bioremediasi adalah cara tepat, mengatasi masalah tanpa masalah. Keilmuan bioremediasi, dan ilmu lain yang mendukungnya berkembang sangat cepat. Perubahan detail aplikasi, mikroorganisme yang berperan, alat analisis, dan lain-lainnya dimungkinkan untuk terjadi dalam rangka mempercepat laju pemulihan (baca: penguraian). Teknik bioremediasi tertentu untuk suatu lokasi tertentu mungkin saja baik, namun belum tentu baik dilakukan jika diaplikasikan ditempat lain. Sebagai contoh, bioremediasi biostimulasi, pada

lokasi tertentu mungkin saja terdapat mikroorganisme lokal yang efektif untuk merombak polutan, namun di tempat lain mungkin saja tidak ada mikrobanya dan kalau pun ada, apakah mereka efektif menjalankan perannya sebagai agen pengurai? Dengan perkataan lain, teknik bioremediasi adalah sangat “*site specific*”. Oleh karena itu, aplikasi bioremediasi harus dilakukan secara hati-hati.

2. Berkaitan dengan substansi Kepmen No. 128 tahun 2003, antara lain:

a. Mempersyaratkan hasil akhir olahan Total Petroleum Hidrokarbon (TPH) < 1% dengan konsentrasi awal TPH <15% (Bab IV). Jika (point 2), 1. Olahan TPH >2% (Proses bioremediasi dilanjutkan), 2. Olahan TPH 1-2% (*Landfill* katagori III, Kepdal No. Kep-4/Bapedal/09/1995), 3. Olahan TPH < 1% (Proses bioremediasi selesai, dapat dimanfaatkan secara khusus dan terbatas). Peraturan ini terbit dengan pertimbangan bahwa limbah minyak bumi memiliki sifat yang khusus, dan karena kekhususannya maka pemulihannya dilakukan secara biologis. Pengalihan proses pemulihan dari secara biologis menjadi *landfill* Katagori III menunjukkan bentuk inkonsistensi dari peraturan ini. Akan lebih baik jika proses pemulihan tetap dilakukan secara biologis. Konsentrasi TPH 1–2% atau sekitar 10.000–20.000 ppm masih dapat dikatakan berkonsentrasi tinggi. Proses bioremediasi masih akan berlangsung, dan akan berhenti jika prosesnya dialihkan. Ulasan lebih detail tentang bioremedasi minyak mentah dijelaskan pada Bab III.

Hasil olahan dengan TPH < 1% (10.000 ppm) masih memiliki sifat toksik. Sehingga, penghentian proses bioremediasi dilakukan jika konsentrasi hasil olahan memiliki nilai *Lethal Dosis* (LD) dibawah 50% dan konsentrasi TPH < 0,1%. Kepekatan itu tercermin, bila 100 g tanah terkontaminasi minyak bumi (TPH 1%) diekstraksi secara bertingkat dengan pelarut yang benar, diperlukan kurang lebih 300 ml (100 ml masing masing untuk heksan, *chloroform*, dan *dicloromethana*) atau tiga kali lipat dari tanah yang diekstraksi.

Telaah mendalam tentang bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

- b. Analisis terhadap proses pemulihan, mulai dari point 1 s/d 4 tidak menyebutkan batas minimal populasi mikroba (jamur & bakteri) dalam satuan CFU (*Colonies-Forming Units*) atau yang setingkat (BAB III). Perlu diingat bahwa bioremediasi adalah proses penguraian secara biologis, yaitu pemanfaatan mikroorganisme. Analisis tentang tipe jenis mikroba serta populasinya harus menjadi persyaratan mutlak selama proses pengolahan berlangsung. Jika mikroba terdeteksi maka perlu dipertegas dengan uji biodegradabiliti, “uji kemampuan mikroba dalam mengurai target polutan, bisa mikroba tunggal atau konsorsium”. Pengujian-pengujian ini dapat dilakukan dengan cepat melalui analisis genomic atau proteomic, tanpa harus melalui pengujian secara konvensional, jika sumberdayanya mendukung. Bagaimana jika mikroorganisme tidak terdeteksi? Jelas bahwa proses bioremediasi tidak terjadi, melainkan terjadi melalui proses secara fisik (Haritash & Kaushik 2009). Begitu juga bila mikroorganismenya terdeteksi namun tidak memiliki biodegradabiliti maka penguraian secara biologis juga tidak akan pernah terjadi.
- c. Perizinan pengelolaan limbah minyak secara biologis mengacu pada PP No. 18 tahun 1999. Pengolahan limbah dapat dilakukan sendiri, atau diserahkan pekerjaannya kepada badan usaha lain untuk melakukan pengolahan. Proses pengolahan limbah minyak bumi sifatnya khusus, oleh karenanya badan usaha yang bergerak dalam pengolahannya pun harus memiliki sertifikat kelayakan untuk mengoperasikan proses pengolahan. Proses sertifikasi bisa meminta pertimbangan dari ahli-ahli bioremediasi, *c.q. Forum Bioremediasi*, dan disahkan/diterbitkan oleh kementerian terkait. Sertifikat ini sebaiknya memiliki batas waktu, dan dapat diperbaharui jika waktu berlakunya habis.

5.2. Bioremediasi di PT. Chevron Pasific Indonesia

PT. Chevron Pacific Indonesia (CPI) merupakan perusahaan minyakasing terbesar di Indonesia. Dulu CPI bernama PT. Caltex yang merupakan anak perusahaan dari Chevron dan Texaco. Perubahan nama menjadi CPI terjadi pada tahun 2005 didasari oleh arah perubahan pemilik saham. Kegiatan eksplorasi, pengeboran pertama kali dilakukan tahun 1939 di daerah Kubu I, diikuti tahun berikutnya di daerah Minas I, Sebangau dan Duri. Wilayah operasi CPI secara keseluruhan mencapai 42.000 Km², mencakup 4 Propinsi, yaitu Riau, Jambi, Sumatra Utara, dan Aceh. Dari wilayah operasi di Sumatra, CPI mampu memproduksi 50% dari kapasitas produksi minyak mentah Indonesia.

Sebagai perusahaan yang bergerak dalam bidang usaha migas, tidak bisa dihindari bahwa pasti akan menghasilkan limbah selama proses eskploitasi dan pemurnian yang dilakukan oleh CPI. Mereka memiliki kewajiban dan tanggung jawab melakukan pemulihan lahan terkontaminasi sebagaimana tertuang dalam UU No. 32 tahun 2009. Sebenarnya dalam pemulihan lingkungan tercemar, CPI adalah pengggagas dan pionir dalam aplikasi bioremediasi di Indonesia. Mereka melakukan bioremediasi secara *ek-situ* di Propinsi Riau, dengan membangun 9 fasilitas bioremedisi berkapasitas 42.000 m³ tanah/siklus perlakuan. Aplikasi bioremediasi dimulai pada tahun 1994 sampai saat ini. Awalnya bioremediasi hanya dilakukan pada skala laboratorium, pilot, lapangan dan akhirnya pada tahun 2002 bioremediasi diaplikasikan pada skala besar (*full-scale*). Sampai dengan saat ini mereka mengklaim bahwa bioremediasi yang telah dilakukannya berhasil memulihkan tanah tercemar lebih dari 500.000 m³, di mana tanah tersebut digunakan untuk proses penghijauan seluas 60 ha.

Teknik bioremediasi yang dilakukan oleh CPI adalah *land farming* secara *ek-situ*. Tanah yang terkontaminasi dipisahkan, diangkut dan diolah/dipulihkan ditempat lain. Monitoring proses bioeremediasi dilakukan setiap 2 minggu sampai 8 bulan, seperti yang dipersyaratkan

Telaah mendalam tentang bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

dalam Kepmen LH No.128/2003. Mereka juga melanjutkan monitoring tanah hasil olahan (TPH < 1%) setiap 6 bulan selama 2 tahun untuk mempertegas bahwa tanah hasil olahan aman dan tidak berbahaya jika dikembalikan ke lingkungan. Hasil pengerjaan bioremediasi dilaporkan kepada kementerian Lingkungan Hidup, dan pada akhirnya mereka akan mendapat Surat Status Penyelesaian Lahan Terkontaminasi (SSPLT). Untuk mengoperasikan proses pemulihan secara bioremediasi ini, CPI memperkerjakan tidak kurang dari 100 tenaga ahli, peneliti, serta teknisi dengan didukung oleh laboratorium terakreditasi.

Pada pertengahan tahun 2012, proses bioremediasi yang dilakukan CPI selama ini di terjang badai kasus bioremediasi fiktif. Pelaksanaan kegiatan bioremediasi dari tahun 2003 sampai 2011 diduga merugikan negara sebesar Rp200 Miliar dari nilai kegiatan Rp2,5 Triliun. Pemberitaan mengenai kasus ini mencapai 1511 berita, baik di media cetak maupun elektronik. Terlepas benar, objektif dan keilmiahannya tidaknya dakwaan yang dituduhkan, pemulihan lahan tercemar dengan bioremediasi tidak boleh terhenti. Pendekatan bioremediasi yang dilakukan oleh CPI “biostimulasi” tidak salah, sesuai dengan Kepmen LH No. 128 tahun 2003. Kefiktifan ini disinyalir karena adanya dana pemulihan yang diberikan oleh Negara. Cara, metode, analisis, monitoring, dan evaluasi yang dilakukan oleh semua pihak harus benar-benar objektif, jujur, dan berintegritas sesuai dengan apa adanya. Hal ini mungkin juga serupa dengan skenario DR untuk sektor kehutanan, yaitu apabila reboisasi kawasan hutan konsesi dilakukan dengan benar maka hutan akan kembali normal sampai saat ini. Terlepas dari aktivitas lain seperti alih fungsi hutan, perambahan, *illegal logging*, dan sebagainya. Jangan sampai proses bioremediasi bernasib sama dengan upaya reboisasi eks-hutan konsesi yang pada akhirnya lingkungan rusak dan masyarakat awam yang tidak berdosa menjadi korban.

5.3. Upaya Tindak Lanjut

Berkaitan dengan uraian aplikasi bioremediasi di Indonesia, beberapa upaya tindak lanjut perlu mendapatkan perhatian dan perlakuan yang serius. Upaya tindak lanjut didasari oleh suatu kenyataan bahwa lingkungan tercemar harus dipulihkan dengan metode yang benar, jauh dari hasil yang menyimpang dan berbiaya murah. Peraturan, terutama berkaitan dengan Kepmen LH 128 tahun 2003 perlu dikaji ulang untuk mempertajam substansi proses pengolahan, metode analisis dan memperkecil dampak negatif akhir hasil pengolahan. Sebagai lembaga pemerintah yang bertanggung jawab atas regulasi ini, maka pelaksanaan regulasi tersebut harus didukung oleh sumberdaya manusia yang memiliki dasar keilmuan bioremediasi yang cukup, berintegritas moral tinggi, cakap, jujur dan bertanggung jawab. Objek target pencemar perlu diperluas, tidak hanya untuk minyak mentah namun untuk jenis pencemar lainnya seperti POP berklorinasi, zat pewarna dll. Upaya pemulihan lingkungan tercemar yang dilimpahkan ke pihak ke-3 perlu dilakukan kajian yang mendalam. Meskipun bioremediasi terlihat sangat mudah dan sederhana, namun dasar keilmuan bioremediasi sangat multidisplin; mikrobiologis, ilmu lingkungan, ilmu tanah, kimia analisis, geologis dan arsitektur. Setiap bidang keilmuan tersebut harus terdistribusi di dalam personalia pihak ke-3. Lebih jauh dari itu mereka harus memiliki spesifikasi bidang pekerjaan bioremediasi yang telah teruji dan memiliki sertifikat.



BAB VI

PENUTUP

Polutan atau limbah adalah sisa atau residu buangan baik secara langsung atau tidak dapat mempengaruhi kesehatan dan lingkungan. Limbah buangan tersebar dalam bentuk dan sifat yang sangat beragam. Jumlahnya sangat berkorelasi dengan laju peningkatan populasi penduduk. Populasi penduduk dunia mencapai 6.1 Miliar di tahun 2000 dan akan meningkat 47% (8.9 Miliar) di tahun 2050. Sementara ini, di Indonesia ledakan jumlah penduduk terjadi sekitar 3 kali lipat bila dibandingkan populasi penduduk antara tahun 1970-an dan 2000-an. Ledakan penduduk ini akan menyebabkan meningkatnya berbagai aktifitas untuk mendukung kehidupan manusia yang terus berkembang, seperti industrialisasi, dan pola pertanian modern. Tingginya lahan yang dikonversi dan dirambah (pertanian, perkebunan, dan pertambangan), rusaknya sistem ekosistem, menurunnya kualitas lingkungan dan diperparah dengan terjadinya akumulasi senyawa berbahaya berupa limbah buangan yang tidak bisa kita hindari adalah fakta yang tidak bisa dinafikan hari ini. Keadaan ini memaksa kita untuk terus menerus berfikir kreatif dalam mencari solusi, penanganan, pengolahan, perlindungan, dan pemulihan lingkungan tercemar sebagaimana yang telah diamanatkan.

Bioremediasi lahir dengan sebuah pendekatan bahwa penguraian atau dekomposisi limbah secara alami terjadi karena peran dari mikroba. Meskipun bioremediasi bukan satu satunya cara untuk pemulihan lingkungan tercemar, namun bioremediasi adalah metode yang ramah lingkungan, murah, sederhana, dan lebih diterima oleh masyarakat dibandingkan dengan metode lainnya. Bioremediasi berpijak pada

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

proses penguraian secara biologis, dan oleh karena itu aplikasinya harus dilakukan secara hati-hati. Mengapa demikian? Mikroba sebagai agen penguraian adalah makhluk hidup, mereka hidup seperti halnya manusia yang hidup di dunia ini. Beberapa faktor yang mendukung kehidupan mereka harus dikontrol dan dikendalikan agar proses pengurai berjalan dengan maksimal (Bab II).

Lingkungan tercemar sering mengandung beberapa campuran kelompok senyawa kimia. Sebagai contoh, ceceran minyak mentah merupakan limbah yang tersusun dari senyawa hidrokarbon yang kompleks. Mereka saling berinteraksi, sehingga sangat sulit terurai secara sempurna dalam waktu yang singkat (Bab III). Senyawa lain yang berpotensi sebagai limbah dan memiliki sifat yang sama atau bahkan lebih berbahaya adalah senyawa berklorinasi dan zat pewarna (Bab IV). Meskipun sudah dibahas dalam Bab III dan IV tentang kemampuan mikroba dalam proses penguraian, namun tantangan bioremediasi masih besar seiring dengan kompleksitas senyawa limbah buangan yang dihasilkan industri ke depan.

Bencana longsor dan banjir terjadi ketika hujan datang, dimana aliran air permukaan sangat mudah mengikis lapisan permukaan tanah karena tutupan lahan terus dieksploitasi. Air sungai diperkotaan sangat kotor (berwarna kehitaman), berbau dan ditumpuki sampah buangan rumah tangga karena dampak dari industrialisasi. Pada musim kemarau, bencana kekeringan dan asap pun terjadi dimana mana. Ini adalah kenyataan yang harus diterima sebagai akibat bahwa proses perlindungan, pengelolaan, penanganan, dan pemulihan lingkungan di Indonesia boleh dikatakan masih relatif longgar, belum maksimal, dan perhatian banyak pihak terkait materi ini masih jauh tertinggal bila dibanding dengan negara-negara maju. Bagaimana dengan lingkungan tercemar oleh minyak mentah di Indonesia (Bab V), sudahkah sesuai? atau masih perlu penyempurnaan?. Terlepas dari itu, semua pihak harus mulai sadar akan fungsinya, dan dengan penuh rasa tanggung jawab menjaga lingkungan agar tetap sehat. Sangatlah berdosa jika lingkungan yang rusak itu dibiarkan. Kemudian diwariskan kepada masyarakat dan anak cucu kita yang tidak tau apa pun tentang kesalahan itu. Mereka itu tidak berdosa, hanya menerima, dan merasakan dampaknya.

Artinya, harapan kita adalah agar semua pihak yang terkait dengan masalah rusaknya kualitas lingkungan, terutama pemerintah, pihak pengusaha dan masyarakat madani, dapat menjadi aktor pembangunan yang berperilaku lebih rasional.

“Dan bila dikatakan kepada mereka:” Janganlah kamu membuat kerusakan di muka bumi”. Mereka menjawab: “Sesungguhnya kami orang yang mengadakan perbaikan.”

QS Al-Baqarah, 2: 11

“Dan janganlah kamu membuat kerusakan di muka bumi, sesudah (Allah) memperbaikinya dan bedoalah kepada-Nya dengan rasa takut (tidak akan di terima) dan harapan (akan dikabulkan). Sesungguhnya rahmat Allah amat dekat kepada orang-orang yang berbuat baik.”

QS Al-A'raf, 7:56

“Telah tampak kerusakan di darat dan di laut disebabkan karena perbuatan tangan manusia, supaya Allah menjadikan mereka merasakan (hukuman) dari (akibat) sebagian perbuatan mereka, agar mereka kembali (ke jalan yang benar).”

QS Al-Rum, 31:41

DAFTAR PUSTAKA

- Acevedo F, Pizzul L, Castillo M, del-P, Cuevas R, Cristina MC. 2011. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by the Chilean white-rot fungus *Anthracophyllum discolor*. *Journal of Hazardous Materials*. 185: 212–219
- Adekunle AA, Adebambo OA. 2007. Petroleum hydrocarbon utilization by fungi isolated from *Detarium Senegalense* seeds. *Journal of American Science*. 3: 69–76.
- Aislabie JM, Richards NK, Bould HL. 1997. Microbial degradation of DDT and its residues: a review. *New Zealand Journal of Agricultural Research*. 40: 269–282.
- Ajoku GAO, Oduola MK. 2013. Kinetic model of pH effect on bioremediation of crude petroleum contaminated soil. 1. model development. *American Journal of Chemical Engineering*. 1: 6–10.
- Aksu Z, Donmez G. 2005. Combined effects of molasses sucrose and reactive dye on the growth and dye bioaccumulation properties of *Candida tropicalis*. *Process Biochemistry*. 40: 2443–2454.
- Al-Awadhi H, Dashti N, Kansour M, Sorkhoh N, Radwan S. 2012. Hydrocarbon-utilizing bacteria associated with biofouling materials from offshore waters of the Arabian Gulf. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 69: 10–16.
- Ali H. 2010. Biodegradation of Synthetic Dyes: A Review. *Water, Air & Soil Pollution*. 213: 251–273.
- Alonso-Gutiérrez J, Teramoto M, Yamazoe, Harayama S, Figueras, Novoa B. 2011. Alkane-degrading properties of *Dietzia* sp. H0B, a key player in the Prestige oil spill biodegradation (NW Spain). *Journal of Applied Microbiology*. 111: 800–810.

Telaah mendalam tentang bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

- Alvarez PJJ, Illman WA. 2006. *Bioremediation and Natural Attenuation: Process Fundamentals and Mathematical Models*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.
- Andrea Z, Barbara G, Astrid R, Artur C-P. 2005. Degradation of Azo Dyes by *Trametes villosa* Laccase over Long Periods of Oxidative Conditions. *Applied Environmental Microbiol.* 71: 6711–6718.
- Asgher M, Shah SAH, Ali M, Legge RL. 2006. Decolorization of some reactive dyes by white rot fungi isolated in Pakistan. *World Journal of Microbiology Biotechnology*. 22: 89–93.
- Ayu KR, Hadibarata T, Toyama T, Tanaka Y, Mori K. 2011. Bioremediation of Crude Oil by White Rot Fungi *Polyporus* sp. S133. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 21: 995–1000.
- Balachandran C, Duraipandiyar V, Balakrishna K, Ignacimuthu S. 2012. Petroleum and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) degradation and naphthalene metabolism in *Streptomyces* sp. (ERI-CPDA-1) isolated from oil contaminated soil. *Bioresource Technology*. 112: 83–90.
- Bamforth SM, Singleton I. 2005. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon: current knowledge and future directions. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 80: 723–736.
- Bautista LF, Sanz R, Molina MC, Gonzalez N, Sanchez D. 2009. Effect of different non-ionic surfactants on the biodegradation of PAHs by diverse aerobic bacteria. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 63: 913–922.
- Bej AK, Saul D, Aislabie J. 2000. Cold-tolerant alkane-degrading *Rhodococcus* species from Antarctica. *Polar Biology*. 23: 100–105.
- Bezalel L, Hadar Y, Cerniglia CE. 1997. Enzymatic mechanisms involved in phenanthrene degradation by the white rot fungus *Pleurotus ostreatus*. *Applied and Environmental Microbiology*. 63: 2495–2501.

- Binazadeh M, Karimi IA, Li Z. 2009. Fast biodegradation of long chain n-alkanes and crude oil at high concentrations with *Rhodococcus* sp. Moj-3449. *Enzyme and Microbial Technology*. 45: 195–202.
- Bonin P, Cravo-Laureau C, Michotey V, Hirschler-Réa A. 2004. The anaerobic hydrocarbon biodegrading bacteria: An overview. *Ophelia*. 5: 243–254.
- Boopathy R. 2000. Factors limiting bioremediation technologies. *Bioresources Technology*. 74: 63–67.
- Bouchez M, Blanchet D, Vandecasteele JP. 1995. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by pure strains and by defined strain associations: inhibition phenomena and co-metabolism. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 43: 156–164.
- Cerniglia CE. 1992. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Biodegradation*. 3: 351–368.
- Cerniglia CE. 1993. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Current Opinion in Biotechnology*. 4: 331–338.
- Cerniglia CE. 1997. Fungal metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons: past, present and future applications in bioremediation. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 19: 324–333.
- Cerniglia CE, Sutherland JB. 2001. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons by ligninolytic and non-ligninolytic fungi. In: Gadd GM, (Ed). *Fungi in bioremediation*. New York: Cambridge University Press, pp. 136–187.
- Champagne PP, Ramsay JA. 2005. Contribution of manganese peroxidase and laccase to dye decoloration by *Trametes versicolor*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 69: 276–285.
- Chandrakant S, Karigar, Shwetha SR. 2011. Role of Microbial Enzymes in the Bioremediation of Pollutants: A Review. *Enzyme Research*. ID 805187, 11 pages.

Telaah mendalam tentang bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

- Chen CC, Chen CY, Cheng CY, Teng PY, Chung YC. 2011. Decolorization characteristics and mechanism of Victoria Blue R removal by *Acinetobacter calcoaceticus* YC210. *Journal of Hazardous Materials*. 196: 166–172.
- Chen KC, Wu JY, Liou DJ, Huang SCJ. 2003. Decolorization of the textile dyes by newly isolated bacterial strains. *Journal of Biotechnology*. 101: 57–68.
- Chung KT, Cerniglia CE. 1992. Mutagenicity of azo dyes: structure activity relationship. *Mutation Research*. 277: 201–220.
- Ciullini I, Tili D, Scozzafava A, Briganti F. 2008. Fungal laccase, cellobiose dehydrogenase, and chemical mediators: combined actions for the decolorization of different classes of textile dyes. *Bioresource Technology*. 99: 7003–7010.
- Collins PJ, Kotterman MJJ, Field JA, Dobson ADW. 1996. Oxidation of anthracene and benzo[a]pyrene by laccases from *Trametes versicolor*. *Applied and Environmental Microbiology*. 62: 4563–4567.
- Couto SR. 2007. Decolouration of industrial azo dyes by crude laccase from *Trametes hirsute*. *Journal of Hazardous Materials*. 148: 768–770.
- Cravo-Laureau C, Grossi V, Raphel D, Matheron R, Hirschler-Réa A. 2005. Anaerobic n-alkane metabolism by a sulfate-reducing bacterium, *Desulfatibacillum aliphaticivorans* strain CV2803T. *Applied and Environmental Microbiology*. 71: 3458–3467.
- Cravo-Laureau C, Matheron R, Cayol JL, Joulain C, Hirschler-Réa A. 2004. *Desulfatibacillum aliphaticivorans* gen. nov., sp. nov., an n-alkane- and n-alkene-degrading, sulfate-reducing bacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 54: 77–83.
- Dale WE, Copeland MF, Hayes WJ. 1965. Chlorinated insecticides in the body fat of people in India. *Bulletin of World Health Organization*. 33: 471–477.

- Dash HR, Mangwani N, Chakraborty J, Kumari A, Das S. 2013. Marine bacteria: potential candidate for enhanced bioremediasi. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 76: 561–571.
- Dawkar VV, Jadhav UU, Ghodake GS, Govindwar SP. 2009. Effect of inducers on the decolorization and biodegradation of textile azo dye Navy blue 2GL by *Bacillus* sp. VUS. *Biodegradation*. 20: 777–787.
- Departement of Enviromental Quality (DEQ). 1998. Fundamental Prinsiples of bioremediasi, an aid to development of bioremediasi proposal. DEQ, Enviromental Response Division, Virginia.
- Ding J, Cong J, Zhou J, Gao S. 2008. Polycyclic aromatic hydrocarbon biodegradation and extracellular enzyme secretion in agitated and stationary cultures of *Phanerochaete chrysosporium*. *Journal of Environmental Sciences*. 20: 88–93.
- Elshafie A, AlKindi AY, Al-Busaidi S, Bakheit C, Albahry SN. 2007. Biodegradation of crude oil and n-alkane by fungi isolated from Oman. *Marine Pollution Bulletin*. 54: 1692-1696.
- Enayatzamir N, Tabandeh F, Rodríguez-Couto S, Yakhchali B, Alikhani HA, Mohammadi L. 2011. Biodegradation pathway and detoxification of the diazo dye Reactive Black 5 by *Phanerochaete chrysosporium*. *Bioresource Technology*. 102: 10359–10362.
- Enayatzamir K, Tabandeh F, Yakhchali B, Alikhani HA, Couto SR. 2009. Assessment of the joint effect of laccase and cellobiose dehydrogenase on the decoloration of different synthetic dyes. *Journal of Hazardous Materials*. 169: 176–181.
- Environmental Protection Agency (EPA). 2009. Glossary of technical terms: U.S. Environmental Protection Agency.
- Environmental Protection Agency (EPA). 1993. Guide for conducting Treatability studies under CERCLA: Biodegradation Remedy Selection. EPA/540/R-93/519 a, 1993, pp. 1–41.
- Environmental Protection Agency (EPA). 1998. Seminar Series on Monitored Natural Attenuation for Ground Water, EPA/625/K-98/001. Washington, DC: Office of Solid Waste and Emergency Response.

Telaah mendalam tentang bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

- Environmental Protection Agency (EPA). 2000. Engineered Approaches to In Situ Bioremediation of Chlorinated Solvents: Fundamentals and Field Applications, EPA-542-R-00-008. Washington, DC: Office of Solid Waste and Emergency Response, 2000.
- Environmental Protection Agency (EPA). 2006. In Situ and Ex Situ Biodegradation Technologies for Remediation of Contaminated Site. Engineering issue, EPA/625/R-06/015, Office of Research and Development National Risk Management Research Laboratory Cincinnati, OH 45268.
- Eweis BJ, Savina JE, Daniel PYC, Edward DS. 1998. Bioremediation Principles. International Edition, McGraw-Hill Company, Inc. United States.
- Ferreira-Leitao VS, Kling SH, Da Silva Jr JG, Bon EPS. 2003. Methylene Blue and azure B oxidation by horseradish peroxidase: a comparative evaluation of class II and class III peroxidases. *Applied Catalysis B: Environment*. 42: 213–221.
- Field JA, Sierra-Alvarez R. 2008. Microbial degradation of chlorinated dioxins. *Chemosphere*. 71: 1005–1018.
- Forss J, Welander U. 2009. Decolorization of reactive azo dyes with microorganisms growing on soft wood chips. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 63: 752–758.
- Gavril M, Hodson PV, McLellan J. 2007. Decoloration of Amaranth by the white-rot fungus *Trametes versicolor*. Part I. Statistical analysis. *Canadian Journal of Microbiology*. 53: 313–326.
- Geological Survey. 2007. Glossary--Biodegradation: U.S. Geological Survey.
- Glass DJ. 2000. Economic potential of phytoremediation In: Phytoremediation of toxic metals—Using plants to clean up the environment. John Wiley and Sons, 7: 15–33.
- Grassi E, Scodeller P, Filiel N, Carballo R, Levin L. 2011. Potential of *Trametes trogii* culture fluids and its purified laccase for the decolorization of different types of recalcitrant dyes without the addition of redox mediators. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 65: 635–643.

- Gribble GW. 1994. The natural production of chlorinated compounds. *Environmental Science & Technology*. 28: A310–A319.
- Grossi V, Cravo-Laureau C, Guyoneaud R, Ranchou-Peyruse A, Hirschler-Réa A. 2008. Metabolism of n-alkanes and n-alkenes by anaerobic bacteria: A summary. *Organic Geochemistry*. 39: 1197–1203.
- Gül ÜD. 2013. Treatment of dyeing wastewater including reactive dyes (Reactive Red RB, Reactive Black B, Remazol Blue) and Methylene Blue by fungal biomass. *Water SA*. 39: 593–598.
- Hadibarata T, Yusoff ARM, And Kristanti A. 2011. Decolorization and Metabolism of Anthraquinone-Type Dye by Laccase of White-Rot Fungi *Polyporus* sp. S133. *Water, Air, & Soil Pollutans*. 2: 933–941.
- Hadibarata T, Tachibana S, Askari M. 2011. Identification of Metabolites from Phenanthrene Oxidation by Phenoloxidases and Dioxygenases of *Polyporus* sp. S133. *Journal of Microbiology & Biotechnology*. 21: 299–304.
- Hadibarata T, Tachibana S, Itoh K. 2007. Biodegradation of phenanthrene by fungi screened from nature. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 10: 2535–2543.
- Hadibarata T, Tachibana S, Itoh K. 2008. Biodegradation of chryene, an aromatic hydrocarbon by *Polyporus* sp. S.133 in liquid medium. *Journal of Harzardous Materials*. 164: 911–917.
- Hadibarata T, Yusoff ARM, Aris A, Salmiati, Hidayat T, Kristanti RA. 2012. Decolorization of Azo, Triphenylmethane and Anthraquinone Dyes by Laccase of a Newly Isolated *Armillaria* sp. F022. *Water, Air, & Soil Pollution*. 233: 1045–1954.
- Haines JR, Alexander M. 1974. Microbial degradation of high molecular weight alkanes. *Applied Microbiology*. 28: 1084–1085.
- Hamedaani HR, Sakurai A, Sakakibara M. 2007. Decolorization of synthetic dyes by a new manganese peroxidase producing white rot fungus. *Dyes and Pigments*. 72: 157–162.
- Hamer G. 1993. Bioremediation: a response to gross environmental abuse. *Trends in Biotechnology*. 11: 317–319.

Telaah mendalam tentang bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

- Hammel KE, Gai WZ, Green B, Moen MA. 1992. Oxidative degradation of phenanthrene by the ligninolytic fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Applied and Environmental Microbiology*. 58: 1832–1838.
- Hammel KE, Kalyanaraman B, Kirk TK. 1986. Oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons and dibenzo[p]-dioxins by *Phanerochaete chrysosporium* ligninase. *Journal of Biology Chemistry*. 261: 16948–16952.
- Hammer E, Schauer F. 1997. Fungal hydroxylation of dibenzofuran. *Mycological Research*. 101: 433–436.
- Hao R, Lu A, Wang, G. 2004. Crude-oil-degrading thermophilic bacterium isolated from an oil field. *Canadian Journal of Microbiology*. 50: 175–182.
- Harayama S, Kishira H, Kasai Y, Shutsubo K. 1999. Petroleum biodegradation in marine environments. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*. 1: 63–70.
- Haritash AK, Kaushik CP. 2009. Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): A review. *Journal of Harzardous Materials*. 169: 1–15.
- Hasanuzzaman M, Ueno A, Ito H, Ito Y, Yamamoto Y, Yumoto I, Okuyama H. 2007. Degradation of long-chain n-alkanes (C36 and C40) by *Pseudomonas aeruginosa* strain WatG. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 59: 40–43.
- Haselwandter K, Ebner MR. 1994. Microorganisms surviving for 5300 years. *FEMS Microbiology Letters*. 166: 189–194.
- Heitkamp MA, Franklin W, Cerniglia CE. 1988. Microbial metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons: Isolation and characterization of a pyrene-degrading bacterium. *Applied and Environmental Microbiology*. 54: 2549–2555.
- Hidayat A. 2013. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), polychlorinated aromatic compounds (PACs), polylactic acid (PLA)/kenaf composite, and crude oil by fungi screened from nature. Dissertation. The united graduated school of agricultural science, Ehime University.

- Hidayat A, Tachibana S. 2012. Biodegradation of aliphatic hydrocarbon in three types of crude oil by *Fusarium* sp. F092 under stress with artificial sea water. *Journal of Environmental Sciences and Technology*. 5: 64–73
- Hidayat A, Tachibana S. 2013. Degradation of 2,4,8-trichlorodibenzofuran by a new isolate of *Cerrena* sp. F0607. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 77: 51–55.
- Hidayat A, Tachibana S. 2014. Decolorization of azo dyes and mineralization of phenanthrene by *Trametes* sp. AS03 isolated from Indonesian Mangrove Forest. *Indonesian Journal of Forestry Research*. 1: 67–75
- Hidayat A, Tachibana S. 2015. Biodegradation of wastewater textile dyes by recycling of immobilized fungus, isolated from forest, in a small-scale bioreactor. Proceeding INAFOR, 21–22 October 2015, IPB Convention Center, Bogor. pp. 243–249.
- Hidayat A, S Tachibana. 2013. Crude oil and n-octadecane degradation under saline conditions by *Fusarium* sp. F092. *Journal of Environmental Sciences and Technology*. 6: 29–40.
- Hidayat A, Tachibana S, Itoh K. 2012. Determination of chrysene degradation under saline conditions by *Fusarium* sp. F092, a fungus screened from nature. *Fungal Biology*. 116: 706–714.
- Husaini A, Roslan HA, Hii KSY, Ang CH. 2008. Biodegradation of aliphatic hydrocarbon by indigenous fungi isolated from used motor oil contaminated sites. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. 24: 2789–2797.
- Ilyas M, Sudaryanto A, Setiawan IE, Riyadi AS, Isobe T, Takahashi S, Tanabe S. 2011. Characterization of polychlorinated biphenyls and brominated flame retardants in sediments from riverine and coastal waters of Surabaya, Indonesia. *Marine Pollution Bulletin journal*. 62: 89–98.
- Irene K, Ellen LL. 2003. Rhizoremediation: A Beneficial Plant-Microbe Interaction. *Molecular Plant Microbe Interaction*. 17: 6–15.

Telaah mendalam tentang bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

- Ishii K, Furuichi T, Tanikawa N, Kuboshima M. 2009. Estimation of the biodegradation rate of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin by using dioxin-degrading fungus, *Pseudallescheria boydii*. *Journal of Hazardous Materials*. 162: 328–332.
- Jadhav SB, Phugare SS, Patil PS, Jadhav JP. 2011. Biochemical degradation pathway of textile dye Remazol red and subsequent toxicological evaluation by cytotoxicity, genotoxicity and oxidative stress studies. 65: 733–743.
- Jin X, Liu G, Xu Z, Yao W. 2007. Decolorization of a dye industry effluent by *Aspergillus fumigatus* XC6. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 74: 239–243.
- Johannes C, Majcherczyk A, Hutterman A. 1996. Degradation of anthracene by laccase of *Trametes versicolor* in the presence of different mediator compounds. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 46: 313–317.
- Joshi DK, Gold MH. 1994. Oxidation of Dibenzo-p-dioxin by Lignin Peroxidase from the Basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Biochemistry*. 33: 10969–10976.
- Karlen DA, Larter SR. 1991. Analysis of petroleum fractions by TLC-FID: applications to petroleum reservoir description. *Organic Geochemistry*. 17: 603–617.
- Kato T, M Haruki, T Imanaka, M Morikawa, and S Kanaya. 2001. Isolation and characterization of long-chain-alkane degrading *Bacillus ther- moleovorans* from deep subterranean petroleum reservoirs. *Journal of Bioscience & Bioengineering*. 91: 64–70.
- Kaushik P, Malik A. 2009. Fungal dye decolorization: Recent advances and future potential. *Environment International*. 35: 127–141
- Khandare RV, Kabra AN, Awate AV, Govindwar SP. 2013. Synergistic degradation of diazo dye Direct Red 5B by *Portulaca grandiflora* and *Pseudomonas putida*. *Interntional Journal of Environmental Science & Technology*. 10: 1039–1050.
- Kiehlmann E, Pinto L, Moore M. 1996. The transformation of chrysene to *trans*-1,2-dihydrochrysene by filamentous fungi. *Canadian Journal of Microbiology*. 42: 604–608.

- Kiyohara H, Torigoe S, Kaida N, Asaki T, Iida T, Hayashi H, Takizawa N. 1994. Cloning and characterization of a chromosomal gene cluster, *pah*, that encodes the upper pathway for phenanthrene and naphthalene utilization by *Pseudomonas putida* OUS82. *Journal of Bacteriology*. 176: 2439–2443.
- Kotterman MJJ, Heessels E, de Jong E, Field JA. 1994. The physiology of anthracene biodegradation by the white rot fungus *Bjerkandera* sp. strain BOS55. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 42: 179–186.
- Kuhad RC, Sood N, Tripathi KK, Singh A, Ward OP. 2004. Developments in microbial methods for the treatment of dye effluents. *Advances in Applied Microbiology*. 56: 185–213.
- Kumar A, Bisht BS, Joshi VD, Dhewa T. 2011. Review on bioremediation of polluted environment: a management tool. *International Journal of Environmental Science*. 1: 1079–1092.
- Lambert M, Kremer S, Sterner O, Anke H. 1994. Metabolism of pyrene by the basidiomycete *Crinipellis stipitaria* and identification of pyrenequinones and their hydroxylated precursors in strain JK375. *Applied and Environmental Microbiology*. 60: 3597–3601.
- Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM. 2004. *Lehninger's Principles of Biochemistry*. New York, NY, USA: W.H. Freeman.
- Lonergan GT, Jones CL, Mainwaring DE. 1993. The effect of temperature and culture medium on the degradative activity of *Phanerochaete chrysosporium* evaluated using three qualitative screening methods. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 31: 107–104.
- Maier RM, Pepper IL, Gerba CP. 2000. *A Textbook of Environmental Microbiology*. California-San Diego: Academic Press.
- Majcherczyk A, Johannes C, Hüttermann A. 1998. Oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) by laccase of *Trametes versicolor*. *Enzyme and Microbial Technology*. 22, 335–341.
- Malik A. 2006. Environmental microbiology, bioremediation. [<http://nsdl.niscair.res.in/jspui/bitstream/123456789/659/1/Bioremediation.pdf>, diakses, 9 agustus 2014].

Telaah mendalam tentang bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

- Margesin R, Schinner F. 2001. Biodegradation and bioremediation of hydrocarbons in extreme environments. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 56: 650–663.
- McKenna EJ, Kallio RE. 1971. Microbial metabolism of the isoprenoid alkane pristane. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 68: 1552–1554.
- McKinley VL, Vestal JR. 1985. Physical and chemical correlates of microbial activity and biomass in composting municipal sewage sludge. *Applied and Environmental Microbiology*. 50: 1395–1403.
- Megharaj M, Ramakrishnan B, Venkateswarlu K, Sethunathan N, Naidu R. 2011. Review. Bioremediation approaches for organic pollutants: A critical perspective. *Environmental International*. 37: 1362–1375.
- Meuller G, Chapman PJ, Pritchard PH. 1989. Action of fluoranthene-utilizing community on polycyclic aromatic hydrocarbon components of creosote. *Applied and Environmental Microbiology*. 55: 3085–3090
- Miller RR. 1996. *Bioslurping*, Technology Overview Report TO-96-05. Groundwater Remediation Technologies Analysis Center, October 1996.
- Mishra S, Jyot J, Kuhad RC, Lal B. 2001. In situ bioremediation potential of an oily sludge-degrading bacterial consortium. *Current Microbiology*. 43: 328–335.
- Moilanen U, Osma JF, Winqvist E, Leisola M, Couto SR. 2010. Decolorization of simulated textile dye baths by crude laccases from *Trametes hirsuta* and *Cerrena unicolor*. *Engineering and Life Sciences*. 10: 242–247.
- Monna L, Omori T, Kodama T. 1993. Microbial degradation of dibenzofuran, fluorene, and dibenzo-p-dioxin by *Staphylococcus auriculans* DBF63. *Applied and Environmental Microbiology*. 59: 285–289.

- Moody JD, Freeman JP, Doerge DR, Cerniglia CE. 2001. Degradation of Phenanthrene and Anthracene by Cell Suspensions of *Mycobacterium* sp. Strain PYR-1. *Applies and Environmental Microbiology*. 67: 1476–1483.
- Mori T, Nakamura K, Kondo R. 2009. Fungal hydroxylation of polychlorinated naphthalenes with chlorine migration by wood rotting fungi. *Chemosphere*. 77: 1230–1235.
- Mori T, Kondo R. 2002. Oxidation of dibenzo-p-dioxin, dibenzofuran, biphenyl, and diphenyl ether by the white-rot fungus *Phlebia lindtneri*. *Applied of Microbiology and Biotechnology*. 60: 200–205.
- Munawar Z. 2013. Bioremediasi limbah minyak bumi dengan teknik biopile di lapang Klamono Papua. *Sains & Materalitika*. 1: 41–46.
- Murgich J, Abanero JA, Strausz OP. 1999. Molecular recognition in aggregates formed by asphaltene and resin molecules from the Athabasca oil sand. *Energy and Fuels*, 13: 278–286.
- National Research Council (NRC). 2003. Oil in the Sea III: Inputs, Fates, and Effects. The National Academy of Science, The National Academies Press, Washington, D.C.
- Nelson AH, Allard AN. 2008. Environmental degradation and transformation of organic chemicals. CRC Press, Taylor & Francis Group. The United States of America, Florida.
- Nigam P, Armour G, Banat IM, Singh D, Marchant R. 2000. Physical removal of textile dyes from effluents and solid-state fermentation of dye-adsorbed agricultural residues. *Bioresource Technology*. 72: 219–226.
- Novotny C, Svobodova K, Kasinath A, Erbanova P. 2004. Biodegradation of synthetic dyes by *Irpepex lacteus* under various growth conditions. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 54: 215–223.
- Nozaki K, Beh CH, Mizuno M, Isobe T, Shiroishi M, Kanda T. 2008. Screening and investigation of dye decolorization activities of basidiomycetes. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 105: 69–72.

Telaah mendalam tentang bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

- Ojumu TV, Bello OO, Sonibare JA, Solomon BO. 2004. Evaluation of microbial systems for bioremediation of petroleum refinery effluents in Nigeria. *African Journal of Biotechnology*. 4: 31–35.
- Olukanni OD, Osuntoki AA, Kalyani DC, Gbenle GO, Govindwar SP. 2010. Decolorization and biodegradation of Reactive Blue 13 by *Proteus mirabilis* LAG. *Journal of Hazardous Materials*. 184: 290–298.
- Owens EH, Taylor E, Parker-Hall HA. 2007. Spill Site Investigation in Environmental Forensic Investigations. In: Wang, Z., Stout, S.A. (Ed) Oil spill environment forensics, fingerprinting and source identification. Academic Press, Elsevier, United State of America.
- Pandey A, Singh P, Iyengar L. 2007. Review Bacterial decolorization and degradation of azo dyes. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 59: 73–84.
- Passarini MRZ, Rodrigues MVN, da Silva M, Sette LD. 2011. Marine-derived filamentous fungi and their potential application for polycyclic aromatic hydrocarbon bioremediation. *Marine Pollution Bulletin*. 62: 364–370
- Pepper IL, Gerba CP. 2005. *Environmental Microbiology: A Laboratory Manual. Second edition*. United State of America: Elsevier Academic Press.
- Pineda-Flores G, Mesta-Howard AM. 2001. Petroleum asphaltenes: Generated problematic and possible biodegradation mechanisms. *Revista Latinoamericana de Microbiologia*.
- Pineda-Flores G, Boll-Argüello G, Lira-Galeana C, Mesta-Howard AM. 2004. A microbial consortium isolated from a crude oil sample that uses asphaltenes as a carbon and energy source. *Biodegradation*. 15: 145–151.
- Pinto LJ, Moore MM. 2000. Release of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soils by surfactant and remediation of this effluent by *Penicillium* spp. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 19: 1741–1748.

- Pinyakong O, Habe H, Supaka N, Pinpanichkarn P, Juntongjin K, Yoshida T, Furihata K, Nojiri H, Yamane H, Omori T. 2000. Identification of novel metabolites in the degradation of phenanthrene by *Sphingomonas* sp. Strain P2. *FEMS Microbiology Letters*. 191: 115–121.
- Pirnik MP, Atlas RM, Bartha R. 1974. Hydrocarbon metabolism by *Brevibacterium erythrogenes*: normal and branched alkanes. *Journal of Bacteriology*. 119: 868–878.
- Pothuluri JV, Freeman JP, Evans FE, Cerniglia CE. 1993. Biotransformation of fluorene by the fungus *Cunninghamella elegans*. *Applied and Environmental Microbiology*. 59: 1977–1980.
- Pothuluri JV, Selby A, Evans FE, Freeman JP, Cerniglia CE. 1995. Transformation of chrysene and other polycyclic aromatic hydrocarbon mixtures by the fungus *Cunninghamella elegans*. *Canadian Journal of Botany*. 73: 1025–1033.
- Potin O, Rafin C, Veignie E. 2004. Bioremediation of an aged polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)-contaminated soil by filamentous fungi isolated from soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 54: 45–52.
- Prince RC, Walters CC. 2007. Biodegradation of oil hydrocarbon and its applications for source identification. In: Wang, Z., Stout, S.A. (Ed) Oil spill environment forensics, fingerprinting and source identification. Academic Press, Elsevier, United State of America.
- Purnomo AS, Kamei I, Kondo R. 2008. Degradation of 1,1,1-Trichloro-2,2-Bis (4-Chlorophenyl) Ethane (DDT) by Brown-Rot Fungi. *Journal Of Bioscience and Bioengineering*. 105: 614–621.
- Rama R, Mougins C, Boyer FD, Kollmann A, Malosse C, Sigoillot JC. 1998. Biotransformation of benzo[a]pyrene in bench scale reactor using laccase of *Pycnoporus cinnabarinus*. *Biotechnology Letters*. 20: 1101–1104.
- Rike AG, KB Haugen, M Børresen, B Engene, P Kolstad. 2003. *In situ* biodegradation of petro- leum hydrocarbons in frozen arctic soils. *Cold Regions Science & Technology*. 37: 97–120.

Telaah mendalam tentang bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

- Romero S, Blanquez P, Caminal G, Font X, Sarra M, Gabarrell X. 2006. Different approaches to improving the textile dye degradation capacity of *Trametes versicolor*. *Biochemical Engineering Journal*. 31: 42–47.
- Sakaki T, Munetsuna E. 2010. Enzyme systems for biodegradation of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 88: 23–30.
- Sanchez-Porro S, Martin S, Mellado E, Ventosa A. 2003. Diversity of moderately halophilic bacteria producing extracellular hydrolytic enzymes. *Journal of Applied Microbiology*. 94: 295–300.
- Saratale G, Kalme S, Bhosale S, Govindwar S. 2007. Biodegradation of kerosene by *Aspergillus ochraceus* NCIM-1146. *Journal of Basic Microbiology*. 47: 400–405
- Sari AA, Tachibana S, Maryanto. 2012. Correlation of Ligninolytic Enzymes from the Newly-Found Species *Trametes versicolor* U97 with RBBR Decolorization and DDT Degradation. *Water, Air, & Soil Pollutan*, 223: 5781–5792.
- Sari AA, Tachibana S, Itoh K. 2012. Determination of co-metabolism for 1,1,1-trichloro-2,2-bis(4-chlorophenyl) ethane (DDT) degradation with enzymes from *Trametes versicolor* U97. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 114: 176–181.
- Schleiphake K, Mainwaring DE, Lonergan GT, Jones IK, Baker WL. 2000. Transformation and degradation of the disazo dye Chicago Sky Blue by a purified laccase from *Pycnoporus cinnabarinus*. *Enzyme and Microbial Technology*. 27: 100–107.
- Shah PD, Dave SR, Rao MS. 2012. Enzymatic degradation of textile dye Reactive Orange 13 by newly isolated bacterial strain *Alcaligenes faecalis* PMS-1. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 69: 41–50.
- Singh AD, Vikineswary S, Abdullah N, Sekaran M. 2011. Enzymes from spent mushroom substrate of *Pleurotus sajor-caju* for the decolourisation and detoxification of textile dyes. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. 27: 535–545.

- Singh H. 2006. *Mycoremediation: Fungal Bioremediation*. John Wiley & Sons, Inc. United State of America.
- Singh US, Kapoor K. 2010. *Microbial Biotechnology*. Oxford Book Company, Mehra Offset Press, Delhi.
- Speight JG. 2007. *The chemistry and technology of petroleum*. CRC Press Taylor & Francis Group , United States of America.
- Stolz A. 2001. Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 56: 69–80.
- Strauzs PO, Mojelsky WT, Faraji F, Lown ME, Peng P. 1999. Additional structural details on Athabasca asphaltene and their ramification. *Energy Fuels*. 13: 207–227.
- Sudaryanto A, Takahashi S, Monirith I, Ismail A, Muchtar M, Zheng J, Richardson BJ, Subramanian A, Prudente M, Hue ND, Tanabe S. 2002. Asia-Pacific mussel watch: monitoring of butyltin contamination in coastal waters of Asian developing countries. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2: 2119–2130.
- Sutherland JB, Rafii F, Khan AA, Cerniglia CE. 1995. Mechanisms of polycyclic aromatic hydrocarbon degradation. In: Young, L.L., Cerniglia, C.E. (Ed) *Microbial Transformation and Degradation of Toxic Organic Chemicals*. New York: Wiley-Liss. pp. 269–300.
- Tachibana S, Kiyota Y, Koga M. 2005. Biodegradation of 2,7-Dibenzo-*p*-Dioxin and 2,4,8-Trichlorodibenzofuran in soil by fungi screened from nature. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 8: 1751–1751.
- Takada S, Nakamura M, Matsueda T, Kondo R, Sakai K. 1996. Degradation of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and polychlorinated dibenzofurans by the white rot fungus *Phanerochaete sordida* YK-624. *Applied And Environmental Microbiology*. 62: 4323–4328
- Talley JW. 2005. Introduction to recalcitrant compounds. In: Talley, J.W. (Eds.). *Bioremediation of recalcitrant compounds*. Taylor & Francis, Group. The United States of America.

Telaah mendalam tentang bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

- Tanabe S, Gondaira F, Subramanian A, Ramesh A, Mohan D, Kumaran P, Venugopalan VK, Tatsukawa R. 1990. Specific pattern of persistent organochlorine residues in human breast milk from South India. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 18: 899–903.
- Tavaker M, Svobodova K, Kuplenk J, Novotny C, Pavko C. 2006. Biodegradation of Azo Dye RO16 in different reactors by immobilized *Irpex lacteus*. *Acta Chimica Slovenica*. 53: 338–343.
- Tavassoli T, Mousavi SM, Shojaosadati S, Salehizadeh H. 2012. Asphaltene biodegradation using microorganisms isolated from oil samples. *Fuel*. 93:142–148.
- Telke AA, Ghodake GS, Kalyani DC, Dhanved RS, Govindwar SP. 2011. Biochemical characteristics of a textile dye degrading extracellular laccase from a *Bacillus* sp. ADR. *Bioresource Technology*. 102: 1752–1756.
- Theerachat M, Morel S, Guieyese D, Remaud-Simeon, Chulalaksananukul W. 2012. Comparison of synthetic dye decolorization by whole cells and a laccase enriched extract from *Trametes versicolor* DSM 11269. *African Journal of Biotechnology*. 11: 1964–1969.
- Ting WTE, Yuan SY, Wu SD, Chang BV. 2011. Biodegradation of phenanthrene and pyrene by *Ganoderma lucidum*. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 65: 238–242.
- U.S. Congress, Office of Technology Assessment, 1991. Bioremediation for Marine Oil Spills— Background Paper, OTA-BP-O-70. Washington, DC: U.S. Government Printing Office.
- Valli K, Wariishi H, Gold MH. 1992. Degradation of 2,7-dichlorodibenzo-*p*-dioxin by the lignin-degrading basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Journal of Bacteriology*. 174: 2131–2137.
- Van der Zee FP, Villaverde S. 2005. Combined anaerobic-aerobic treatment of azo dyes—A short review of bioreactor studies. *Water Research*. 39: 1425–1440.

- Van-Beilen JB, Wubbolts MG, Witholt B. 1994. Genetics of alkane oxidation by *Pseudomonas oleovorans*. *Biodegradation*. 5: 161–174.
- Venkateswaran K, Hoaki T, Kato M, Maruyama T. 1995. Microbial degradation of resins fractionated from Arabian light crude oil. *Canadian Journal of Microbiology*. 41:418–24.
- Verma AK, Raghukumar C, Verma P, Shouche YS, Naik CG. 2010. Four marine-derived fungi for bioremediation of raw textile mill effluents. *Biodegradation*. 21: 217–233.
- Vidali M. 2001. Bioremediation. An overview. *Pure and Applied Chemistry*. 73: 1163–1172.
- Walworth JL, Reynolds CM, Rutter A, Snape I. 2008. Landfarming. In : Filler DM, Snape I, Barnes DL, Ed. *Bioremediation of Petroleum Hydrocarbons in Cold Regions*. New York: Cambridge University Press , The United States of America.
- Watanabe K. 2001. Microorganisms relevant to bioremediation. *Current Opinion in Biotechnology*. 12: 237–241.
- National Research Council. 1993. In Situ Bioremediation: When Does it Work?. The National Academy of Sciences, Washington, D.C., The United State of America.
- Watkinson RJ, Morgan P. 1990. Physiology of aliphatic hydrocarbon-degrading microorganisms. *Biodegradation*. 1; 79–92.
- Whyte LG, Hawari J, Zhou E, Bourbonniere L, Inniss WE, Greer CW. 1998. Biodegradation of variable-chain-length alkanes at low-temperatures by a psychrotrophic *Rhodococcus* sp. *Applied & Environmental Microbiology*. 64: 2578–2584.
- Whyte LG, Bourbonniere L, Greer CW. 1997. Biodegradation of petroleum hydrocarbons by psychrotrophic *Pseudomonas* strains possessing both alkane (*alk*) and naphthalene (*nah*) catabolic pathways. *Applied and Environmental Microbiology*. 63: 3719–3723.

Telaah mendalam tentang bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

- Widada J, Nojiri H, Yoshida T, Habe H, Omori T. 2002. Enhanced degradation of carbazole and 2,3-dichlorodibenzo-p-dioxin in soils by *Pseudomonas resinovorans* strain CA10. *Chemosphere*. 49: 485–491.
- Woods LFJ, Wiseman A. 1979. Metabolism of benzo[a]pyrene by the cytochrome P-450/P-448 of *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochemical Society Transactions*. 7: 124–127.
- Woods NR, Murrell JC. 1989. The metabolism of propane in *Rhodococcus rhodochrous* PNKB1. *Journal of General Microbiology*. 135: 2335–2344.
- Xiao P, Mori P, Kamei I, Kondo R. 2011a. A novel metabolic pathway for biodegradation of DDT by the white rot fungi, *Phlebia lindtneri* and *Phlebia brevispora*. *Biodegradation*. 22: 859–867.
- Xiao P, Mori T, Kamei I, Kondo R. 2011b. Metabolism of organo chlorine pesticide heptachlor and its metabolite heptachlor epoxide by white rot fungi, belonging to genus *Phlebia*. *FEMS Microbiology Letters*. 314: 140–146.
- Xiao X, Xu C-C, Wu Y-M, Cai P-P, Li WW, Dua D-L, Yuc H-Q. 2012. Biodecolorization of Naphthol Green B dye by *Shewanella oneidensis* MR-1 under anaerobic conditions. *Bioresource Technology*. 110: 86–90.
- Yanto DHY, Hidayat A, Tachibana S. 2017. Periodical biostimulation with nutrient addition and bioaugmentation using mixed fungal cultures to maintain enzymatic oxidation during extended bioremediation of oily soil microcosms. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 116: 112–123.
- Yanto DHY, Tachibana S. 2013. Biodegradation of petroleum hydrocarbons by a newly isolated *Pestalotiopsis* sp. NG007. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 85: 438–450.
- Yanto DHY, Tachibana S. 2014a. Potential of fungal co-culturing for accelerated biodegradation of petroleum hydrocarbons in soil. *Journal of Hazardous Materials*. 278: 454–463.

- Yanto DHY, Tachibana S. 2014b. Enhanced biodegradation of asphalt in the presence of Tween surfactants, Mn^{2+} and H_2O_2 by *Pestalotiopsis* sp. in liquid medium and soil. *Chemosphere*. 103: 105–113.
- Ye S J-S, Yin H, Qiang J, Peng H, Qin H-M, Zhang N, He B-Y. 2011. Biodegradation of anthracene by *Aspergillus fumigatus*. *Journal of Hazardous Materials*. 185: 174–181.
- Yemashova NA, Murygina VP, Zhukov DV, Zakharyantz AA, Gladchenko MA, Appanna V, & Kalyuzhnyi SV. 2007. Biodeterioration of crude oil and oil derived products: A review. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*. 6: 315–337.
- Young L, Yu J. 1997. Ligninase catalysed decolourization of synthetic dyes. *Water Resources*. 31: 1187–1193.
- Zeng X, Cai Y, Liao X, Zeng X, Lia W, Zhang D. 2011. Decolorization of synthetic dyes by crude laccase from a newly isolated *Trametes trogii* strain cultivated on solid agro-industrial residue. *Journal of Hazardous Materials*. 187: 517–525.
- Zhang X-X, Cheng S-P, Zhu C-J, Sun S-L. 2006. Microbial PAH-degradation in soil: degradation pathways and contributing factors. *Pedosphere*. 16: 555–565.
- Zhang Z, Hou Z, Yang C, Ma C, Tao F, Xu F. 2011. Degradation of n-alkanes and polycyclic aromatic hydrocarbons in petroleum by a newly isolated *Pseudomonas aeruginosa* DQ8. *Bioresource Technology*. 102: 4111–4116
- Zongllinger H. 1991. Colour chemistry: synthesis, properties and applications of organic dyes and pigments, 5th eds. VCH Publishers, Weinheim, pp 187–246.



PROFIL PENULIS



Asep Hidayat dilahirkan di Lembang, Bandung, tanggal 26 Juni 1977. Pendidikan strata-I jurusan Teknologi Hasil Hutan–Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor (IPB) diselesaikan pada Tahun 2000. Tahun 2002 mulai bekerja sebagai peneliti di Badan Penelitian dan Pengembangan Kementerian Kehutanan. Pada tahun 2007 mendapat kesempatan menjadi *research student* yang dilanjutkan dengan pendidikan strata-II dan -III di *Ehime University–Japan* dengan beasiswa dari Monbukagakusho–MEXT (*Ministry of Education Culture, Sports, Sciences and Technology*). Gelar *Master of Agriculture* (M.Agr) diperolehnya tahun 2010 dan *Doctor of Philosophy* (Ph.D) di tahun 2013. Kini beliau kembali aktif menjadi peneliti dengan ketertarikan pada bidang biodegradasi polutan organik (tumpahan minyak, PAHs, PCBs, dyes and plastik biopolymer, dan lain-lain), teknologi enzimatik, mikrobiologi, *bioresources science*, dan isolasi bahan alam.

Selama masa pendidikan dan menjadi peneliti, penulis cukup aktif mempublikasikan karya ilmiahnya pada jurnal nasional maupun internasional yang terakreditasi, diantaranya lebih dari 18 karyanya telah terbit pada jurnal nasional dan lebih dari 10 karyanya terbit pada jurnal internasional, dan lebih dari 19 hasil penelitiannya telah dipresentasikan di berbagai seminar nasional maupun internasional. Satu penemuannya berupa jamur pendegradasi tumpahan minyak mentah telah berhasil dipatenkan (JP2011067199) pada tahun 2011. Buku pertama yang penulis tulis berjudul *Taxus sumatrana: mutiara terpendam dari zamrud Sumatera*. Penulis juga aktif di berbagai organisasi profesi seperti: Wakil Sekretaris Jenderal Himpunan

Telaah mendalam tentang bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

Peneliti Indonesia (Himpenindo) tahun 2013-2018, Sekretaris 1 Forum Bioremediasi Indonesia (FBI) tahun 2013-2018, Anggota Masyarakat Peneliti Kayu Indonesia (MAPEKI), dan Anggota *Japan Wood Research Sciences* (JWRS)–Japan tahun 2009–2013.



Chairil Anwar Siregar, dilahirkan di Medan pada tanggal 10 September 1958 sebagai anak kedua dari Bapak Thamrin I. Siregar dan Ibu Siti Aminah. Gelar Sarjana Pertanian dari Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor diperoleh tahun 1982. Pada tahun 1988 mendapat kesempatan meneruskan studi di Mississippi State University, USA dan memperoleh gelar Master of Science, Department of Plant and Soil Sciences pada tahun 1990. Selanjutnya pada tahun 1995 menyelesaikan program Doktor di bidang *Soil Science* dan *Forestry* di Universitas yang sama.

Pada tanggal 1 Maret 1983 diangkat sebagai Pegawai Negeri Sipil (PNS) dengan pangkat III/a, dan pada tanggal 1 Oktober 2009 diangkat sebagai Pembina Utama dengan pangkat IV/e. Jabatan fungsional dimulai dari Ajun Peneliti Muda pada tahun 1987, Peneliti Muda pada tahun 1997, Peneliti Madya pada tahun 2001, Ahli Peneliti Muda pada tahun 2004, Ahli Peneliti Madya pada tahun 2005, dan Peneliti Utama pada tahun 2006. Sesuai dengan bidang ilmu yang didalaminya sebagai seorang peneliti, ia telah menghasilkan lebih dari 80 karya tulis ilmiah yang ditulis sendiri maupun dengan penulis lain dalam bentuk buku, jurnal, prosiding, dan makalah yang diterbitkan, 40 diantaranya dalam Bahasa Inggris.

Penulis dikukuhkan sebagai Profesor Riset berdasarkan Surat Keputusan Kepala LIPI Nomor 1099/A/2012 dan melakukan orasi ilmiah dengan judul Konservasi Tanah dan Karbon dalam Pembangunan Kehutanan untuk Mengurangi Perubahan Iklim. Penulis juga sering terlibat dalam kegiatan seminar, kongres, dan konferensi yang berkaitan dengan topik penelitiannya, baik di tingkat nasional maupun internasional. Selanjutnya, yang bersangkutan telah beberapa kali menjadi saksi ahli dalam membela Departemen Kehutanan dan Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan, atas tuduhan perusakan lingkungan di depan Majelis Hakim Konstitusi, Mahkamah Konstitusi, Republik Indonesia (2015).

Telaah Mendalam tentang Bioremediasi:

Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air

Sebagai seorang peneliti pada bidang hidrologi dan konservasi tanah dengan latar belakang pendidikan *Soil Science*, terlibat sebagai anggota organisasi profesi: *Soil Science Society of America*, *International Society of Soil Science*, *Crop Science Society of America*, *Agronomy Science of America*, *International Biochar Initiative* dan Perkumpulan Masyarakat Gambut Indonesia (HGI). Topik penelitian yang digelutinya dalam periode 10 tahun terakhir adalah kuantifikasi karbon pada vegetasi hutan alam dan hutan tanaman, isu perubahan iklim, rehabilitasi lahan terdegradasi paska pertambangan, dan masalah pengelolaan lahan gambut berkelanjutan.