



BIODEGRADASI *XYLENE* DARI LAHAN TERCEMAR MINYAK BUMI OLEH BAKTERI *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS*

M.A.N Ole^{a*}, S.R. Juliastuti^b

^aJurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Ujung Pandang
Jalan Perintis Kemerdekaan KM.10 Tamalanrea, Makassar

^bDepartment Teknik Kimia, Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Sukolilo, Surabaya 60111

*E-mail: maria.ole@poliupg.ac.id

Masuk Tanggal : 31 Mei, revisi tanggal: 16 Juni, diterima untuk diterbitkan tanggal : 30 Juni 2023

Abstrak

Peningkatan eksploitasi minyak bumi merupakan sumber utama pencemaran tanah dan air. Tanah yang tercemar hidrokarbon pada dasarnya telah mengandung mikroorganisme yang dapat memecah hidrokarbon. Akan tetapi proses biodegradasi hidrokarbon dengan metode in situ mengalami hambatan karena lahan tercemar yang luas dan kebutuhan nutrisi yang tidak terpenuhi. Oleh sebab itu maka dikembangkan metode ex situ dengan memindahkan tanah tercemar ke laboratorium untuk diolah dengan metode *slurry* bioreaktor. Mikroorganisme yang digunakan dalam proses ini adalah bakteri aerob *Rhodococcus erythropolis* yang mampu menguraikan alkilbenzena, seperti o-xilena, toluena dan etilbenzena pada temperatur 25°C – 37°C. Proses degradasi dilakukan pada 3 bioreaktor berpengaduk untuk konsentrasi bakteri 12,5%, 15,0% dan 17,5%. Monitoring populasi bakteri dilakukan setiap 2 hari untuk mengetahui fase hidup mikroorganisme. Analisis hidrokarbon dilakukan setiap 14 hari selama 8 minggu dengan metode *gas chromatography* (GC). Bioreaktor 17,5% *Rhodococcus erythropolis* memberikan persen degradasi paling baik yaitu 96,83%.

Kata Kunci: biodegradasi, *slurry* bioreaktor, *Rhodococcus erythropolis*, *xylene*

Abstract

Exploitation of petroleum is a major source of soil and water pollution. Soil contaminated with hydrocarbons basically already contains microorganisms that can break down hydrocarbons. In situ biodegradation of hydrocarbons using the in situ method is hampered by large areas of polluted land and decreasing of nutrients. Therefore, the ex situ method was developed by transferring polluted soil to the laboratory to be processed using the *slurry* bioreactor method. The microorganism used in this process is the aerobic bacterium *Rhodococcus erythropolis* which is capable of decomposing alkylbenzenes, such as o-xylene, toluene and ethylbenzene at temperatures of 25°C – 37°C. The degradation process was carried out in three stirred bioreactors for bacterial concentrations of 12.5%, 15.0% and 17.5%. Bacterial population monitoring is carried out every 2 days to determine the life phase of microorganisms. Hydrocarbon analysis was carried out every 14 days for 8 weeks by *gas chromatography* (GC) method. Bioreactor with 17.5% *Rhodococcus erythropolis* gave the best degradation performance, with 96.83% from initial concentration.

Keywords: biodegradation, *slurry* bioreactor, *Rhodococcus erythropolis*, *xylene*

1. PENDAHULUAN

Seiring dengan meningkatnya kebutuhan minyak bumi, eksploitasi akan semakin naik dan hal tersebut akan mengakibatkan jumlah tanah yang terkontaminasi minyak bumi meningkat ribuan ton setiap tahunnya. Dampak negatif dari kontaminasi minyak bumi adalah terjadinya

pencemaran tanah dan air akibat hidrokarbon yang lepas ke lingkungan [1].

Xylene merupakan senyawa organik volatil yang terdiri dari cincin benzena dan dua gugus metil. *Xylene* membentuk tiga isomer yang berbeda yaitu *m-xylene*, *p-xylene* dan *o-xylene*. *Xylene* bersifat larut dalam air sehingga lepasnya

senyawa ini ke lingkungan berpotensi merusak ekosistem. Apabila masuk ke dalam tubuh melalui kulit, dihirup maupun air minum, *xylene* berpotensi merusak sistem hati, ginjal dan saraf pusat. Oleh sebab itu sangat dibutuhkan monitoring dan degradasi *xylene* di lingkungan[2]

Berbagai upaya telah dilakukan untuk mengatasi pencemaran lingkungan dengan perbaikan pada sistem pengeboran, pengolahan, penyaluran minyak bumi dan pengolahan limbah. Karena sebagian besar hidrokarbon bersifat hidrofobik dan memiliki kelarutan yang rendah dalam air, maka salah satu metode yang diharapkan dapat memperbaiki lingkungan yang terdampak limbah minyak bumi adalah dengan menggunakan mikroorganisme aerobik untuk mendegradasi hidrokarbon [3]. Degradasi dengan memanfaatkan mikroorganisme ini dikenal sebagai proses biodegradasi.

Biodegradasi dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu *in situ* dan *ex situ*. Pada pelaksanaannya, terdapat perbedaan antara bioremediasi yang dilakukan di lokasi tercemar dan yang dilakukan di laboratorium. Teknik *in situ* dapat dilakukan untuk remediasi air tanah meliputi proses deklorinasi, *treatment* aerobik serta penambahan substrat organik dan nutrisi. Metode *ex situ* diterapkan oleh Ayotamuno (2007) untuk remediasi lumpur minyak dalam slurry bioreaktor dengan menambahkan mikroba eksogen dan ditambah pengadukan dan nutrisi. Penurunan kadar TPH menurun sebanyak 63,7% - 84,5% pada minggu ke-6 [4].

Genus *Rhodococcus* merupakan salah satu bakteri yang ditemukan dalam tanah tercemar minyak bumi. Kemampuannya untuk mendegradasi hidrokarbon khususnya alkana, senyawa aromatik, heterosiklik dan senyawa polisiklik didukung oleh toleransi terhadap substrat dan pelarut sehingga mampu bertahan pada tanah yang tercemar hidrokarbon [5]. *Rhodococcus erythropolis* memiliki kemampuan menghasilkan biosurfaktan yang dapat mendegradasi hidrokarbon hingga mencapai 99% selama satu bulan proses remediasi dalam bioreaktor [6]. Selain sifatnya, bakteri *R. erythropolis* mampu mendegradasi pada temperatur ruang (25 – 37°C) akan tetapi laju degradasi akan melambat apabila temperatur dinaikkan menjadi 45°C [7].

2. PROSEDUR PERCOBAAN

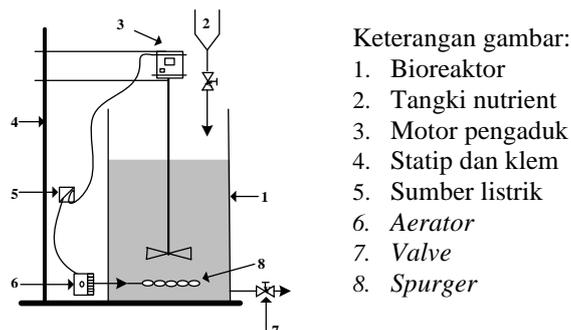
2.1. Preparasi Tanah yang Tercemar Minyak Bumi

Tanah yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari *oil drilling sites* by Pertamina-Petrocina East Java (PPEJ), Tuban, Jawa Timur,

Indonesia. Tanah tersebut kemudian dipersiapkan dengan memisahkan daun, puing, dan material besar lainnya, serta dipindahkan dari lokasi pencemaran. Analisis pendahuluan dilakukan untuk mengetahui kadar awal *xylene* dalam sampel. Selanjutnya, sampel dicampur dengan air dengan rasio 20:80.

2.2. Biodegradasi Tanah yang Tercemar Minyak Bumi

Proses bioremediasi dilakukan secara batch di dalam bioreaktor berpengaduk pada fase slurry dengan rangkaian alat seperti pada gambar 1.



Gambar 1. Rangkaian Alat Slurry Bioreaktor

Penambahan bakteri *Rhodococcus erythropolis* dimaksudkan agar dapat mendegradasi *xylene* dalam kondisi aerob dengan penambahan oksigen yang dihembuskan oleh aerator ke dalam bioreaktor melalui *spurger*.

Sampel yang telah berbentuk *slurry* dimasukkan ke dalam bioreaktor dan ditambahkan bakteri *Rhodococcus erythropolis* dengan konsentrasi 12.5% ; 15% dan 17.5% (v/v) serta nutrisi (N dan P) lalu diaerasi. Biodegradasi berlangsung pada suhu ruang (20 - 30°C) dengan monitoring kondisi operasi dilakukan setiap hari. Pengadukan dilakukan selama proses biodegradasi hingga konsentrasi hidrokarbon sesuai dengan baku mutu.

2.3. Analisis Populasi Bakteri

0,1 mL sampel diencerkan dengan 9,9 mL aquades (pengenceran 100 kali) kemudian ditetaskan ke permukaan *haemocytometer* sampai menutupi seluruh permukaan. Pengamatan jumlah bakteri dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Hasil pengamatan kemudian dihitung untuk menentukan jumlah sel yang hidup:

$$\text{Jumlah Sel} = \frac{\text{Jumlah sel}}{\text{Vol kotak}} \times \text{pengenceran} \quad (1)$$

2.4. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan per 14 hari kemudian diekstraksi dengan pelarut n-Hexane

selama 10 jam kemudian ekstrak dianalisis dengan metode *Gas Chromatography* [8]

2.5. Analisis kadar BTX

Analisis dilakukan dengan *Gas Chromatography* (GC) untuk mengetahui kadar BTX yang terkandung dalam ekstrak tanah yang tercemar. Metode yang digunakan adalah uji standar EPA 8270

Persen biodegradasi dihitung dengan persamaan berikut:

$$\% \text{ biodegradasi} = \left[\frac{(\text{BTX}_0 - \text{BTX}_n)}{\text{BTX}_0} \right] 100\% \quad (2)$$

Dimana BTX_0 merupakan kadar BTX pada minggu ke-0 (g) dan BTX_n adalah kadar BTX pada minggu ke-n (g).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Kondisi awal tanah tercemar minyak bumi

Sampel awal diambil dari lokasi pengeboran minyak Pertamina - Petrocina East Java dengan karakteristik tertulis pada tabel berikut:

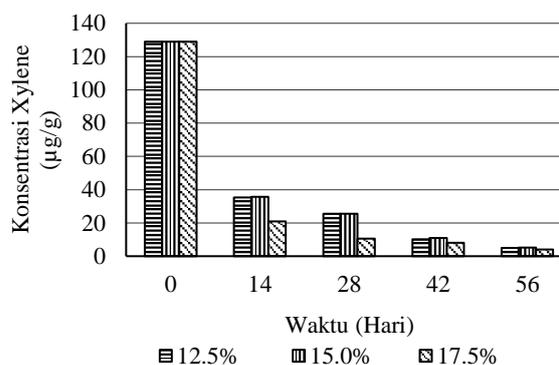
Tabel 1. Kandungan BTX sampel

Parameter	Kadar (ppm)
<i>Benzene</i>	26,44
<i>Toluene</i>	121
<i>Xylene</i>	129

Dari hasil analisis awal, tanah pengeboran tidak dapat langsung dibuang ke lingkungan karena tidak memenuhi baku mutu yang disyaratkan dalam KepMenLH No. 128 tahun 2003.

3.2. Pengaruh Bakteri terhadap degradasi Xylene

Penambahan mikroorganisme ke dalam bioreaktor dengan terlebih dahulu mensterilkan sampel yang tercemar mengakibatkan bakteri eksogenus berperan sebagai agen pendegradasi tunggal. Bakteri eksogenus diharapkan mampu menggantikan fungsi bakteri indigenous dalam mendegradasi hidrokarbon bahkan diharapkan mampu mendegradasi lebih baik lagi. Hasil degradasi *xylene* oleh bakteri *Rhodococcus erythropolis* dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Hubungan waktu terhadap degradasi *xylene*

L. Iminova et al pada 2022 menemukan bahwa kemampuan metabolisme *R. erythropolis* untuk mendegradasi hidrokarbon berada pada suhu ruangan dan akan menurun apabila temperatur dinaikkan. Oleh sebab itu penambahan bakteri *R. erythropolis* sangat membantu proses remediasi tanpa ada penambahan panas pada bioreaktor [7].

Dari grafik tersebut, degradasi *xylene* oleh bakteri *Rhodococcus erythropolis* memberikan hasil signifikan dengan persen degradasi *xylene* mencapai 96.83%. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Kim dkk (2018) dimana bakteri *Rhodococcus* dapat mendegradasi berbagai macam senyawa alifatik, aromatik, heterosiklik, polisiklik aromatik dan hidrokarbon alisiklik. Substrat didegradasi dengan memutus cincin aromatik pada proses monooksigenasi dan dioksigenasi [9]. Penelitian yang dilakukan oleh Banerjee et al. pada 2022 juga menunjukkan bahwa bakteri *Rhodococcus sp* berperan dalam degradasi tiga isomer *xylene* dengan konsentrasi masing-masing 5 mg/L. *m-xylene* dan *p-xylene* didegradasi dalam waktu 24 jam sedangkan degradasi *o-xylene* membutuhkan waktu 48 jam [2]

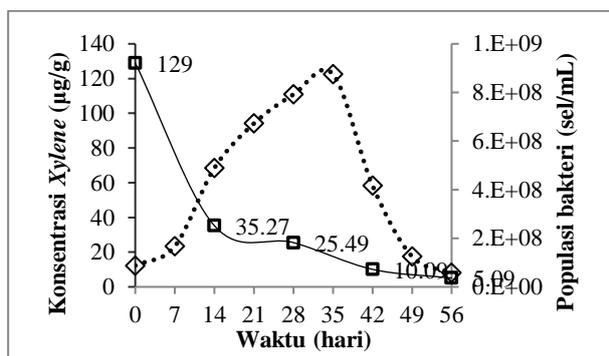
Pada penambahan 17,5% *Rhodococcus erythropolis* memberikan hasil terbaik dimana pada hari ke-42 konsentrasi *xylene* sudah memenuhi syarat yaitu 8,01µg/gram sampel.

Penelitian sebelumnya mendapatkan persen biodegradasi sebesar 89,17% pada penambahan 10% konsorsium bakteri dan 97,42% pada penambahan 15% konsorsium bakteri [10] Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi bakteri eksogenus yang ditambahkan ke dalam bioreaktor pada awal proses akan mempengaruhi laju remediasi dan konsentrasi *xylene* pada akhir proses.

3.3. Pengaruh Populasi Bakteri dan Waktu Degradasi Terhadap Penurunan Konsentrasi Xylene

Untuk mempelajari pengaruh waktu degradasi terhadap penurunan konsentrasi *xylene* dalam sampel maka data ditampilkan pada konsentrasi 12,5% bakteri.

Dapat dilihat pada gambar 3, dua minggu pertama proses degradasi memberikan penurunan yang sangat besar. Penurunan konsentrasi *xylene* sejalan dengan kenaikan populasi bakteri di dalam bioreaktor. Hasil yang sama juga didapatkan pada penelitian mengenai biodegradasi EPH dengan menggunakan konsorsium Bakteri, dimana bakteri memanfaatkan hidrokarbon sebagai *support growth* [10]. Semakin meningkat populasi bakteri maka akan menurunkan jumlah substrat di dalam bioreaktor. Penurunan *xylene* yang signifikan terjadi pada 14 hari pertama, dimana pada saat yang sama bakteri berada dalam fase pertumbuhan. Setelah fase tersebut, konsentrasi *xylene* mulai menurun dan bakteri *Rhodococcus* mulai menyerang rantai hidrokarbon aromatik lain seperti *benzene* dan *toluene* sehingga pada analisis substrat di hari ke 28 dan selanjutnya menunjukkan penurunan konsumsi *xylene* [10].



Gambar 3. Pengaruh Pertumbuhan bakteri terhadap konsentrasi *xylene* dalam bioreaktor

Dalam proses biodegradasi ini, hidrokarbon menjadi substrat utama sehingga penurunan konsentrasi hidrokarbon akan mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Pada hari ke-35, bakteri memasuki fase kematian sehingga terjadi penurunan populasi yang cepat pada minggu ke-6 hingga ke-8. Pada minggu ke-8 proses biodegradasi, konsentrasi *xylene* dianalisis dan hasil yang diperoleh adalah 4,09µg/g sampel dan berada di bawah batas yang disyaratkan yaitu 10µg/g sampel.

4. KESIMPULAN

Tanah di sekitar lokasi pengeboran minyak Pertamina-Petrocina East Java (PPEJ) Tuban mengandung hidrokarbon dengan kadar melewati

batas sehingga perlu diremediasi agar dapat memenuhi baku mutu. Mikroorganisme yang berperan dalam proses bioremediasi adalah bakteri *Rhodococcus erythropolis* yang mampu mereduksi senyawa aromatik.

Kemampuan remediasi dapat dipengaruhi oleh jumlah bakteri yang dimasukkan ke dalam bioreaktor pada awal proses. Semakin besar konsentrasi bakteri maka semakin baik hasil remediasi. Selain itu, waktu yang dibutuhkan untuk remediasi akan semakin singkat.

Proses biodegradasi hidrokarbon sangat dipengaruhi oleh fase hidup mikroorganisme. Laju degradasi paling tinggi terjadi saat bakteri berada pada fase logaritmik. Pada waktu memasuki fase stasioner hingga kematian, laju degradasi menurun seiring dengan menurunnya populasi bakteri. Hasil terbaik dalam biodegradasi *xylene* dengan bakteri *Rhodococcus erythropolis* ini didapatkan pada konsentrasi bakteri 17,5% dengan persen degradasi 96,83% dari konsentrasi awal *xylene* dalam waktu 56 minggu.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] R. Novianty, Saryono, A. Awaluddin, N. W. Pratiwi, A. Hidayah, and E. Juliantari, "The diversity of fungi consortium isolated from polluted soil for degrading petroleum hydrocarbon," *Biodiversitas*, vol. 22, no. 11, pp. 5077–5084, 2021, doi: 10.13057/BIODIV/D221145.
- [2] S. Banerjee, A. Bedics, P. Harkai, B. Kriszt, N. Alpula, and A. Tánicsics, "Evaluating the aerobic xylene-degrading potential of the intrinsic microbial community of a legacy BTEX-contaminated aquifer by enrichment culturing coupled with multi-omics analysis: uncovering the role of Hydrogenophaga strains in xylene degradation," *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 29, no. 19, pp. 28431–28445, Apr. 2022, doi: 10.1007/s11356-021-18300-w.
- [3] X. Xu, W. Liu, S. Tian, W. Wang, Q. Qi, P. Jiang, X. Gao, F. Li, H. Li, and H. Yu, "Petroleum Hydrocarbon-Degrading Bacteria for the Remediation of Oil Pollution Under Aerobic Conditions: A Perspective Analysis," *Frontiers in Microbiology*, vol. 9, Frontiers Media S.A., Mar. 29, 2018. doi: 10.3389/fmicb.2018.02885.
- [4] M. J. Ayotamuno, R. N. Okparanma, E. K. Nweneke, S. O. T. Ogaji, and S. D. Probert, "Bio-remediation of a sludge containing hydrocarbons," *Appl Energy*, vol. 84, no. 9,

- pp. 936–943, Sep. 2007, doi: 10.1016/j.apenergy.2007.02.007.
- [5] H. Busch, P. L. Hagedoorn, and U. Hanefeld, “Rhodococcus as a versatile biocatalyst in organic synthesis,” *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 20, no. 19. MDPI AG, Oct. 01, 2019. doi: 10.3390/ijms20194787.
- [6] G. J. Pacheco, E. M. P. Ciapina, E. de B. Gomes, and N. Pereira Junior, “Biosurfactant production by *Rhodococcus erythropolis* and its application to oil removal,” *Brazilian Journal of Microbiology*, vol. 41, no. 3, pp. 685–693, Oct. 2010, doi: 10.1590/S1517-83822010000300019.
- [7] L. Iminova, Y. Delegan, E. Frantsuzova, A. Bogun, A. Zvonarev, N. Suzina, S. Anbumani, and I. Solyanikova, “Physiological and biochemical characterization and genome analysis of *Rhodococcus qingshengii* strain 7B capable of crude oil degradation and plant stimulation,” *Biotechnology Reports*, vol. 35, Sep. 2022, doi: 10.1016/j.btre.2022.e00741.
- [8] C. Jia, X. Fu, and L. Smith, “Dataset of atmospheric concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons in the Memphis Tri-state Area,” *Data Brief*, vol. 47, Apr. 2023, doi: 10.1016/j.dib.2023.108923.
- [9] D. Kim, C. H. Lee, J. N. Choi, K. Y. Choi, G. J. Zylstra, and E. Kim, “Aromatic hydroxylation of indan by *o*-xylene-degrading *rhodococcus* sp. Strain DK17,” *Appl Environ Microbiol*, vol. 76, no. 1, pp. 375–377, Jan. 2010, doi: 10.1128/AEM.01745-09.
- [10] A. Tuhuloula, S. Suprpto, A. Altway, and S. R. Juliastuti, “Biodegradation of extractable petroleum hydrocarbons by consortia *Bacillus cereus* and *Pseudomonas putida* in petroleum contaminated-soil,” *Indonesian Journal of Chemistry*, vol. 19, no. 2, pp. 347–355, 2019, doi: 10.22146/ijc.33765.