

**EFEKTIVITAS KONSENTRASI PERLAKUAN EKOENZIM  
LIMBAH KULIT NANAS SEBAGAI BIOKATALIK  
REMEDIASI KONTAMINASI  
MINYAK MENTAH**

**SKRIPSI**



**Karin Alifia Rachmadani**  
**NIM. 19.03.02.0004**

**PROGRAM STUDI S1 BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH LAMONGAN  
2023**

**EFEKTIVITAS KOSENTRASI PERLAKUAN EKOENZIM  
LIMBAH KULIT NANAS SEBAGAI BIOKATALIK  
REMEDIASI KONTAMINASI  
MINYAK MENTAH**

**SKRIPSI**

Diajukan kepada Program Studi S1 Biologi Fakultas Sains Teknologi dan Pendidikan  
Universitas Muhammadiyah Lamongan sebagai Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar  
Sarjana Sains Bidang Biologi

**KARIN ALIFIA RACHMADANI**

**NIM 1903020004**

**PROGRAM STUDI S1 BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH LAMONGAN  
2023**

## LEMBAR PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Karin Alifia Rachmadani  
NIM : 1903020004  
Tempat Tanggal Lahir : Lamongan, 28 November 2000  
Insitusi : Prodi S1 Biologi Fakultas Sains Teknologi dan Pendidikan Universitas Muhammadiyah Lamongan.

Menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul: "Efektivitas Kosentrasi Perlakuan Ekoenzim Limbah Kulit Nanas sebagai Biokatalik Remediasi Kontaminasi Minyak Mentah" adalah bukan skripsi orang lain baik sebagian maupun keseluruhan, kecuali dalam bentuk kutipan yang sudah disebutkan sumbernya.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya, dan apabila pernyataan ini tidak benar, saya bersedia mendapatkan sanksi akademik.

Lamongan, 23 Agustus 2023



(Karin Alifia Rachmadani)

NIM 1903020004

**LEMBAR PERSETUJUAN**

Karya Tulis

Oleh : Karin Alifia Rachmadani

NIM : 1903020004

Judul : Efektivitas Kosentrasi Perlakuan Ekoenzim Limbah Kulit Nanas  
sebagai Biokatalik Remediasi Kontaminasi Minyak Mentah.

Telah disetujui untuk diujikan dihadapan Dewan Penguji Skripsi pada tanggal :

23 Agustus 2023

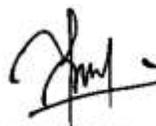
Mengetahui:

Pembimbing I,



Aisyah Hadi Ramadani, S.Si., M.Sc.  
NIK. 19890407202009175

Pembimbing II



M. Ainul Mahbubillah, S.Si., M.Si  
NIK. 19910427202009176

**LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI**

Judul : Efektivitas Kosentrasi Perlakuan Ekoenzim Limbah Kulit Nanas Sebagai Biokatalik Remediasi Kontaminasi Minyak Mentah.  
Penyusun : Karin Alifia Rachmadani  
NIM : 1903020004  
Tanggal Sidang : 23 Agustus 2023

Telah Diuji dan Disetujui Oleh Tim Penguji Pada Ujian Sidang Skripsi di Prodi S1 Biologi Fakultas Sains, Teknologi dan Pendidikan Universitas Muhammadiyah Lamongan

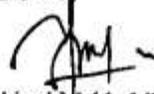
Tanggal : 28 Agustus 2023

Penguji I,



Aisyah Hadi Ramadani, S.Si., M.Sc.  
NIK. 19890407202009175

Penguji II,



M. Ainul Mahbubillah, S.Si., M.Si  
NIK. 19910427202009176

Penguji III,



Rofiatun Solekha, S.Pd., M.Sc.  
NIK. 19920118201909120

Mengetahui,

Dekan

Fakultas Sains, Teknologi dan Pendidikan  
Universitas Muhammadiyah Lamongan



Eko Haryoyo, S.Kom., M.Kom.  
NIK. 19910217201905105

## **PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI**

Skripsi ini tidak dipublikasikan, namun tersedia di perpustakaan dalam lingkungan Universitas Muhammadiyah Lamongan, diperkenankan untuk dipakai referensi kepustakaan, tetapi pengutipan harus seizin penyusun dan harus menyebutkan sumbernya sesuai kebiasaan ilmiah. Dokumen skripsi ini merupakan hak milik Universitas Muhammadiyah Lamongan.

## **ABSTRAK**

Kasus bencana tumpahan minyak di perairan sering terjadi di Indonesia. Pada tahun 2019-2022 di Indonesia memiliki kasus hamper 31 kasus tumpahan minyak. Oleh karena itu, inovasi teknik pendegradasi minyak yang cepat dan ramah lingkungan sangat urgent untuk segera dikaji. Minyak dapat terdistirubusi secara luas karena sifat minyak dengan berat jenis lebih ringan dari air. Menyelesaikan permasalahan minyak selama ini ada 3 yaitu secara kimia, fisika dan biologi. Metode fisika dengan metode oil skimmer. Metode biologi dengan bioremediasi memanfaatkan mikroorganisme dalam mendegradasi minyak. Ekoenzim atau enzim sampah (garbage enzyme) adalah larutan multienzim yang minimal terdiri dari protease, lipase dan amylase. Jenis enzim yang tergantung oleh bahan dasar yang digunakan. Ekoenzim terbentuk setelah tiga bulan melalui proses fermentasi. Penelitian memiliki tujuan untuk mengetahui proses remediasi kontaminasi minyak mentah dan mengetahui enzim yang aktif sebagai katalis dalam ekoenzim limbah kulit nanas. Pemberian ekoenzim pada badan air ketika proses remediasi akan mempengaruhi secara signifikan pH, jumlah bakteri, TPH, dan oksigen terlarut baik dengan kultur diam maupun kultur shaker. Perlakuan kultur diam yang efektif dalam mengurangi TPH pada A8B2 dan untuk pengurangan oksigen terlarut pada A8B2. Pada metode kultur goyang perlakuan yang efektif pada parameter TPH dan oksigen terlarut yaitu A7B1 dan A6B1. Konsentrasi ekoenime sebanyak 15% dan 20% merupakan takaran paling efektif untuk meremidasi kontaminasi minyak mentah 300ppm dan 300ppm. Kultur goyang perlakuan A7B1 memberi pengaruh yang paling besar pada perubahan air, sedangkan kultur diam lebih berdampak pada parameter air. Aktivitas enzim terdapat 3 jenis enzim lipase, enzim alkana hidroksilase dan enzim dioksigenase.

Kata Kunci : Ekoenzim, Minyak Mentah, Bioremediasi dan Nanas.

## **ABSTRACT**

Cases of oil spill disasters in waters often occur in Indonesia. In 2019-2022 in Indonesia there were almost 31 cases of oil spills. Therefore, the innovation of fast and environmentally friendly oil degrading techniques is very urgent to be studied immediately. Oil can be distributed widely because of the nature of oil with a lighter density than water. Solving oil problems so far there are 3 methods, namely chemistry, physics and biology. Physics method with oil skimmer method. Biological methods with bioremediation utilize microorganisms to degrade oil. Ecoenzymes or waste enzymes (garbage enzymes) are multienzyme solutions consisting of at least a protease, lipase and amylase. The type of enzyme depends on the base material used. Ecoenzymes are formed after three months through the fermentation process. The aim of the study was to determine the process of remediation of crude oil contamination and to find out which enzymes are active as catalysts in the ecoenzymes of pineapple peel waste. Giving ecoenzymes to water bodies during the remediation process will significantly affect the pH, the number of bacteria, TPH, and dissolved oxygen both with stationary cultures and shaker cultures. The quiescent culture treatment was effective in reducing TPH in A8B2 and for reducing dissolved oxygen in A8B2. In the shake culture method, the effective treatment for TPH and dissolved oxygen parameters were A7B1 and A6B1. Ecoenzyme concentrations of 15% and 20% are the most effective doses to reduce contamination of 300ppm and 300ppm crude oil. The shaking culture of the A7B1 treatment had the greatest effect on water changes, while the stationary culture had more impact on water parameters. There are 3 types of lipase enzymes, alkane hydroxylase enzymes and dioxygenase enzymes.

**Keywords :** Ecoenzyme, Crude Oil, Bioremediation and Pineapple.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kehadirat Allah SWT, karena berkat rahmat dan hidayahnya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Konsentrasi Perlakuan Ekoenzim Limbah Kulit Nanas sebagai Biokatalik Remediasi Kontaminasi Minyak Mentah” sesuai waktu yang di tentukan skripsi ini saya susun sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh sarjana Biologi di Fakultas Sains Teknologi dan Pendidikan Universitas Muhammadiyah Lamongan. Dalam penyusunan, penulis mendapatkan banyak pengarahan dan bantuan dari berbagai pihak, untuk itu saya tidak lupa mengucapkan terima kasih kepada yang terhormat Bapak/ Ibu :

1. Bpk. Dr. Aziz Alimul Hidayat, S.Kep.,Ns., M. Kep, selaku Rektor Universitas Muhammadiyah Lamongan.
2. Bpk. Eko Handoyo, S.Kom., M.Kom., selaku Dekan Fakultas Sains Teknologi dan Pendidikan Universitas Muhammadiyah Lamongan.
3. Putri Ayu Ika Setiyowati, S.Si., M. Si., selaku Ka-Prodi S1 Biologi Fakultas Sains Teknologi dan Pendidikan Universitas Muhammadiyah Lamongan.
4. Aisyah Hadi Ramadani, S.Si., M.Sc., selaku pembimbing I, yang telah banyak memberikan petunjuk, saran, dorongan moril selama penyusunan skripsi ini.
5. M. Ainul Mahbubillah, S.Si., M.Si., selaku pembimbing II, yang telah banyak memberikan petunjuk, saran, dorongan moril selama penyusunan skripsi ini.
6. Rofiatun Solekha, S.Pd., M.Sc., selaku penguji I, yang telah banyak memberikan saran dan masukan selama penyusunan skripsi ini.
7. Kedua orang tua saya bapak Tulus Mungkardi dan Ibu Sri Lestari yang telah memberikan do'a, semangat, dan dukungan baik secara moril maupun materi selama penyusunan skripsi ini.
8. Tim PKM-RE Ekoenzim yang terdiri dari 2003020014, 2003020011, 2103020020 dan 2103020018, senantiasa membantu dalam segala hal serta

dukungan moral selama melakukan penyusunan dan pelaksanaan penelitian skripsi ini.

9. Semua pihak yang telah memberikan dukungan moril dan materil demi terselesaikannya skripsi ini.

Semoga Allah SWT memberi balasan pahala atas semua amal kebaikan yang di berikan. Saya menyadari skripsi ini masih banyak kekurangan, untuk itu segala kritik dan saran yang bersifat membangun sangat saya harapkan, akhirnya saya berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi penulis pada khususnya dan bagi semua pembaca pada umumnya.

Lamongan, 03 Agustus 2023

Penyusun,

Karin Alifia Rachmadani

## DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR JUDUL .....	ii
LEMBAR PERNYATAAN .....	iii
LEMBAR PERSETUJUAN.....	iv
LEMBAR PENGESAHAN .....	v
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI .....	vi
ABSTRAK .....	vii
ABSTRACT .....	viii
KATA PENGANTAR .....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR .....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat.....	3
1.4.1 Bagi Peneliti.....	3
1.4.2 Bagi Masyarakat .....	4
1.4.3 Bagi Instansi .....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS .....	5
2.1 Tinjauan Pustaka .....	5
2.1.1 Bioremediasi .....	5
2.1.2 Minyak Mentah.....	6
2.1.3 Mekanisme Enzim Lipase.....	9
2.1.4 Mekanisme Enzim Alkana Hidroksilase.....	10
2.1.5 Mekanisme Enzim Dioksigenase.....	11

2.1.6 Ekoenzim .....	11
2.1.7 Kulit Nanas .....	13
2.2 Hipotesis .....	16
<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>	<b>17</b>
3.1. Tempat dan Waktu .....	17
3.2. Bahan dan Alat .....	17
3.2.1. Bahan .....	17
3.2.2. Alat.....	17
3.3. Cara Kerja.....	17
3.3.1 Pembuatan Ekoenzim .....	17
3.3.2 Pengambilan Sampel.....	18
3.3.3 Desain Penelitian .....	18
3.3.4 Pengukuran Perlakuan .....	19
3.4. Variabel .....	24
3.4.1. Variabel Bebas.....	24
3.4.2. Variaber Terikat.....	24
3.4.3. Variabel Terkontrol.....	25
3.5. Cara Analisis Data .....	25
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>26</b>
4.1 Hasil Penelitian.....	26
4.1.1 Kosentrasi Efektivitas Ekoenzim Remediasi Kontaminasi Minyak Mentah .....	26
4.1.2 Jenis Enzim Pada Ekoenzim Kulit Nanas.....	28
4.1.3 Proses Remediasi Minyak Mentah Oleh Ekoenzim .....	30
4.2 Pembahasan .....	39
4.2.1 Efektivitas Kosentrasi Ekoenzim Remediasi Kontaminasi Minyak Mentah .....	39
4.2.2 Jenis Enzim pada Ekoenzim Kulit Nanas .....	41
4.2.3 Proses Remediasi Minyak Mentah oleh Ekoenzim .....	43

BAB V SIMPULAN DAN SARAN.....	49
5.1 Simpulan.....	49
5.3 Saran .....	50
DAFTAR PUSTAKA .....	51

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 3.1 Konsentrasi Perlakuan Ecoenzim	15
Tabel 4.1 Uji <i>One Way Anova</i>	25
Tabel 4.2 Uji lanjut perlakuan kultur goyang	26
Tabel 4.3 Uji lanjut perlakuan kultur diam	26

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 3.1 Proses Kilang Minyak	8
Gambar 4.1 Grafik Kosentrasi Enzim Lipase	27
Gambar 4.2 Grafik Aktivitas Enzim Alkana Hidroksilase	28
Gambar 4.3 Grafik Aktivitas Enzim Dioksigenase	29
Gambar 4.4 Grafik Perlakuan Suhu (A) Goyang dan (B) Diam	30
Gambar 4.5 Grafik Perlakuan Oksigen Terlarut (A) Goyang dan (B) Diam	31
Gambar 4.6 Grafik Perlakuan pH (A) Goyang dan (B) Diam	32
Gambar 4.7 Grafik Perlakuan Salinitas (A) Goyang dan (B) Diam	34
Gambar 4.8 Grafik Perlakuan Jumlah Bakteri (A) Goyang dan (B) Diam	35
Gambar 4.9 Grafik Perlakuan TPH (A) Goyang dan (B) Diam	36
Gambar 4.10 Grafik Perlakuan Viskositas (A) Goyang dan (B) Diam	37

## DAFTAR LAMPIRAN

1. Pembuatan ekoenzim
2. Pengambilan sampel
3. Perhitungan minyak mentah
4. Perhitungan ekoenzim
5. Pembuatan kultur Perilakuann
6. Pengamatan kultur goyang
7. Pengamatan kultur diam
8. Pengamatan enzim
9. Pengukuran enzim
10. Pengukuran TPH
11. Pengukuran viskositas
12. Hasil data
13. Analisis data
14. Uji Duncan

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Kasus bencana tumpahan minyak di perairan sering terjadi di Indonesia. Data yang berhasil dihimpun dari berbagai referensi menyebutkan bahwa hampir setiap tahunnya terjadi kasus tumpahan minyak. Tahun 2019 sebanyak 15 kasus, 2020 tercatat 6 kasus, 2021 terjadi 10 kasus, dan bahkan di tahun 2022 dalam kurun waktu 3 bulan telah terjadi 4 kasus tumpahan minyak di perairan. Lokasi kasus terbanyak di Karawang, Teluk Balikpapan, Aceh, Cilacap, Lampung dan Kepulauan Seribu yang disebabkan oleh kebocoran pipa, pencemaran dari kapal, pengeboran sumur dan putusnya pipa sebanyak dengan total cemaran 6.995.441 liter minyak mentah ke laut (Arvirianty, 2019; Hidayat, 2022; Gozali, 2020; Kementerian Kelautan dan Perikanan, 2022; Walhi, 2022; Andriansyah, 2021; Arumingtyas, 2019)

Dampak terjadinya kasus tumpahan minyak mentah terhadap organisme mengganggu kehidupan mikroorganisme dalam air dengan menghalangi difusi oksigen dari udara ke dalam sehingga jumlah oksigen terlarut di dalam air menjadi berkurang mengurangi pencahayaan sinar matahari ke dalam air sehingga tanaman tidak bisa berfotosintesis. Burung air pun ikut terganggu karena bulunya lengket, tidak bisa mengembang lagi terkena minyak mentah (Hidayat, 2017) Selain itu, air yang telah tercemar oleh minyak juga tidak dapat dikonsumsi oleh manusia karena seringkali dalam cairan yang berminyak terdapat juga zat-zat yang beracun, seperti senyawa benzene, senyawa toluene dan lainnya.

Minyak dapat terdistribusi secara luas karena sifat minyak dengan berat jenis lebih ringan dari air. Kandungan minyak mentah terdiri dari hidrokarbon aromatik, paraffin, dan sikloparafin yang mana sebagian besar bersifat toksik terhadap biota terutama ikan dan lingkungan (Helle *et al.*, 2020; Langangen *et al.*, 2017) Selama ini penyelesaian kasus tumpahan minyak mentah yang dilakukan secara

fisika, kimia dan biologi. Metode fisika dengan metode *oil skimmer* digunakan saat minyak mentah belum menyebar kemana-mana. Metode kimia dengan metode dispersan *corexit* 9500 dapat membersihkan tumpahan minyak dari tabrakan kapal tanker. Metode biologi dengan bioremediasi memanfaatkan mikroorganisme dalam mendegradasi minyak (Sulistyono, 2012). Teknik ini memiliki potensi aplikasi yang luas baik di daratan maupun di perairan yang terkontaminasi oleh minyak. Namun bioremediasi menggunakan bakteri cenderung tidak stabil, harus spesifik, lama dan terlalu dipengaruhi oleh kondisi lingkungan perairan (Darmayanti dan Afianti, 2017).

Bioremediasi tidak hanya dengan bakteri, akan tetapi dapat juga dengan enzim. Menurut Efendi, (2017); Supriyatna *et al*, (2015); dan Wahyuni, (2019) enzim-enzim yang berperan dalam pendegradasi minyak antara lain enzim monooksigenase, enzim dioksigenase dan enzim lipase enzim tersebut berperan sebagai biokatalis dalam reaksi minyak mentah. Bulai *et al.*, (2021) yang menggunakan biokatalik untuk mengatasi kontaminasi minyak di tanah dengan larutan ecoenzim dari limbah jeruk dan semangka. Ekoenzim juga telah digunakan untuk menjernihkan air kolam yang tercemar minyak dari ledakan depot minyak Balongan dan Cilacap milik PT Pertamina (Nurhidayat, Pres.com, 2021), akan tetapi belum ada saintifikasi mengenai konsentrasi dan mekanisme ecoenzyme dalam mendegradasi minyak dari terapan ini.

Ekoenzim atau enzim sampah (*garbage enzyme*) adalah larutan multienzim yang minimal terdiri dari protease, lipase dan amilase. Jenis enzim yang terkandung ditentukan oleh bahan dasar yang digunakan. Ekoenzim terbentuk setelah tiga bulan melalui proses fermentasi menggunakan limbah padat organik dan dapat dijadikan sebagai solusi potensial untuk mengelolah air limbah (Hemalatha dan Visantini, 2020). Ekoenzim dibuat dari limbah sayuran dan buah segar, salah satunya dengan limbah kulit nanas. Nanas mengalami penumpukan diperkebunan dan di industri sekitar. Penggunaan kulit nanas mengurangi pencemaran terhadap lingkungan (Roni, 2020).

Pada metode bioremediasi ada 3 jenis metode yaitu : biostimulasi, bioaugmentasi dan bioremediasi intrinsik. Enzim menggunakan biostimulasi merupakan salah satu cara remediasi dengan cara penambahan stimulan untuk memodifikasi lingkungan dan meminimalisasi faktor pembatas, sedangkan proses bioaugmentasi mikroorganisme baik yang alami maupun yang sudah mengalami perbaikan sifat, dan bioremediasi intrinsik penguraian secara alami tanpa menambahkan sedikit pun stimulan.

### **1.2 Rumusan Masalah**

1. Berapa konsentrasi ekoenzim yang paling efektif untuk remediasi kontaminasi minyak mentah ?
2. Berapa konsentrasi yang tertinggi dari enzim lipase, enzim alkana hidroksilase dan enzim dioksigenase ?
3. Bagaimana proses dari remediasi kontaminasi minyak mentah oleh ekoenzim ?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

1. Menentukan konsentrasi ecoenzim yang paling efektif untuk remediasi kontaminasi minyak mentah.
2. Mengetahui enzim yang aktif sebagai katalis dalam ecoenzim limbah kulit nanas.
3. Mengetahui proses remediasi dari kontaminasi minyak mentah oleh ecoenzim.

### **1.4 Manfaat**

#### **1.4.1 Bagi Peneliti**

1. Manfaat penelitian ini adalah memberikan informasi tentang pencemaran tumpahan minyak mentah di laut melalui metode biostimulasi.
2. Memberikan informasi tentang penggunaan limbah kulit nanas sebagai ecoenzim terhadap kasus tumpahan minyak di laut.

**1.4.2 Bagi Masyarakat**

Manfaat penelitian ini adalah meningkatkan sikap kepedulian masyarakat untuk selalu menjaga kebersihan lingkungan dan memanfaatkan limbah kulit nanas sebagai ecoenzim untuk mengatasi cemaran minyak di perairan.

**1.4.3 Bagi Instansi**

Manfaat penelitian ini sebagai salah satu acuan atau referensi untuk dijadikan bahan penelitian lanjutan mengenai proses bioremediasi ecoenzim pada cemaran minyak mentah di perairan.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS**

#### **2.1 Tinjauan Pustaka**

##### **2.1.1 Bioremediasi**

Bioremediasi secara harfiah mengandung pengertian “*remediate*” dengan arti pemulihan dan “*bio*” organisme hidup. Bioremediasi memiliki arti sebagai respon biologis menuju perbaikan substrat pada lingkungan yang rusak atau tercemar. (Hidayat *et al.*, 2017). Bioremediasi adalah suatu strategi atau proses detoksifikasi polutan yang terdapat dalam lingkungan dengan bantuan mikroba, tumbuhan, atau biokatalisator (enzim) baik enzim mikroba atau enzim tumbuhan (Waluyo, 2018). Menurut Dash *et al.* (2013) menjelaskan bahwa bioremediasi adalah usaha untuk mengakselerasikan terjadinya penguraian material bersifat toksik secara alami melalui optimalisasi faktor tumbuhan pada kondisi suboptimum.

Mekanisme mikroba menggunakan dengan bioaugmentasi yang mana penambahan mikroorganisme dapat mengurangi kontaminasi, mekanisme tumbuhan dengan menggunakan fitoremediasi merupakan teknik ini memanfaatkan tumbuhan untuk mendegradasi, menstabilkan dan mengurangi kontaminasi dalam tanah dan air (Aqli, 2019) dan biokatalisator mengandung enzim yang bisa menjadi remediasi, pada kasus untuk meremediasi minyak mentah enzim yang berperan antara lain: enzim lipase untuk memecah substrat minyak menghidrolisis menjadi asam lemak, enzim alkane hidroksilase untuk memotong ikatan karbon C menjadi lebih pendek, enzim dioksigenase untuk memecah ikatan C menjadi alkohol primer dan enzim monooksigenase untuk memecah ikatan C menjadi asam asetat dan asam karboksilat (Wahyuni, 2019; Jayesree *et al.*, 2014; dan Fanny *et al.*, 2018).

Mekanisme bioremediasi adalah sebagai berikut:

##### **a) Biostimulasi**

Peningkatan pada laju penguraian dengan cara penambahan stimulant untuk memodifikasi lingkungan dan meminimalisasi faktor pembatas disebut sebagai

biostimulasi. Stimulasi mampu mengaktifkan mikroba local (*Indigenous*) sebagai agen pengurai. Bioremediasi ini biasanya diaplikasi di zona vedosa tanah, air, tanah, dan sediman (Hidayat *et al.*, 2017).

#### **b) Bioaugmentasi**

Bioaugmentasi merupakan penambahan atau introduksi satu jenis atau lebih mikroorganisme baik yang alami maupun yang sudah mengalami perbaikan sifat. Mikroorganisme yang dapat membantu membersihkan kontaminan tertentu yang ditambahkan ke dalam air atau tanah yang tercemar tetapi proses ini mempunyai hambatan yaitu sangat sulit untuk mengontrol kondisi situs yang tercemar agar mikroorganisme dapat berkembang dengan optimal, karena mikroorganisme yang dilepaskan pada lingkungan yang asing kemungkinan sulit untuk beradaptasi. Beberapa teknik bioaugmentasi juga diikuti dengan penambahan nutrient tertentu (Fidiastuti *et al.*, 2019).

#### **c) Bioremediasi Intrinsik**

Proses penguraian secara alami tanpa menambahkan sedikit stimulan. Teknik bioremediasi ini dikendalikan dengan cara memantau proses penguraian untuk memastikan bahwa proses bioremediasi masih berlangsung. Bioremediasi intrinsik dilakukan pada lokasi dimana laju penguraian terjadi lebih besar daripada laju perpindahan pada kontaminan ke tempat lain (Hidayat dan Chairil, 2017).

### **2.1.2 Minyak Mentah**

Minyak mentah merupakan bahan tambang yang terdapat di dalam perut bumi, komposisinya berupa senyawaan kimia terdiri dari komponen hidrokarbon dan non hidrokarbon. Minyak bumi berwarna dari coklat kehitam-hitaman sampai hitam pekat dalam bentuk cair dan terdapat gas-gas yang melarut didalamnya, dengan *speciic gravity* berkisar antara 0,8000 – 1,0000. Pada berbagai industri kimia, kilang minyak bumi telah diidentifikasi sebagai emitter besar dari berbagai polutan. Benzene, toluene, ethylbenzene, dan xylene (BTEX) membentuk sebuah kelompok senyawa aromatik penting dari senyawa organik volatil (*volatile organic compounds*) karena

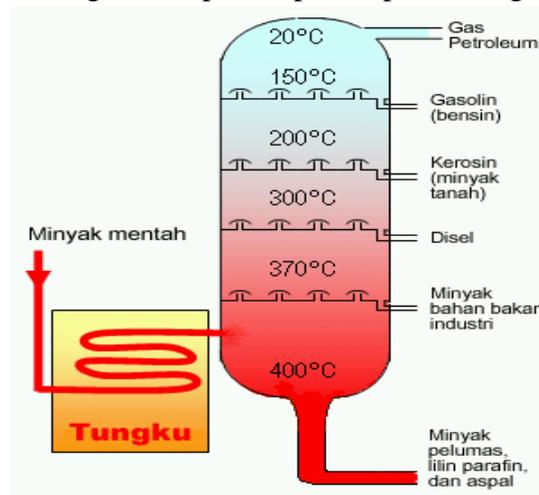
perannya dalam kimia troposfer dan resiko yang ditimbulkan bagi kesehatan manusia (Baltrenas *et al*, 2011).

Minyak mentah merupakan campuran kompleks dari senyawa kimia, yang terdiri dari unsur-unsur karbon (C), hidrogen (H), sulfur (S), oksigen (O), nitrogen (N) dan logam (Cu, Fe, Ni dan lain-lain). Senyawa yang hanya terdiri dari unsur karbon dan hidrogen dikelompokkan sebagai senyawaan hidrokarbon. Senyawaan hidrokarbon diklasifikasikan atas hidrokarbon parain, olein, naften dan aromatik. Sedangkan senyawaan campuran antara unsur karbon, hidrogen dan salah satu unsur atau lebih dari sulfur, oksigen, nitrogen dan logam dikelompokkan sebagai senyawaan non hidrokarbon (Sulistiyono, 2012).

Persentase hidrokarbon ringan di dalam minyak mentah sangat bervariasi tergantung dari ladang minyak, kandungan maksimalnya bisa sampai 97% dari berat kotor dan paling minimal adalah 50%. Jenis hidrokarbon yang terdapat pada minyak bumi sebagian besar terdiri dari alkana, sikloalkana, dan berbagai macam jenis hidrokarbon aromatik, di tambah dengan sebagian kecil elemen-elemen lainnya seperti nitrogen, oksigen dan sulfur, di tambah beberapa jenis logam seperti besi, nikel, tembaga, dan vanadium. Minyak mentah banyak mengandung ribuan konstituen pembentuk yang secara struktur kimia dibagi dalam 4 golongan, diantaranya: (1) Hidrokarbon jenuh, kelompok minyak yang memiliki rantai atom karbon; (2) Aromatik, yang tersusun oleh 6 atom karbon; (3) Asphal dan resin, komponen berat struktur kimia kompleks non Hidrokarbon; (4) Porphyrine, berasal dari degradasi klorofil. Kelompok utama senyawa dalam minyak mentah adalah hidrokarbon jenuh (seperti n-alkana dan bercabang dan sikloalkana yang tidak mengandung ikatan rangkap), hidrokarbon aromatik, resin dan asphaltenes dan senyawa organologam (Haryono dan Henry, 2019).

Secara garis besar, proses yang berlangsung di dalam kilang minyak dapat digolongkan menjadi 5 bagian, yaitu:

1. Proses Distilasi, yaitu proses penyulingan berdasarkan perbedaan titik didih. Proses ini berlangsung di kolom distilasi atmosferik dan Kolom Destilasi Vakum.
2. Proses Konversi, yaitu proses untuk mengubah ukuran dan struktur senyawa hidrokarbon. Termasuk dalam proses ini adalah:
  - Dekomposisi dengan cara perengkahan termal dan katalis (thermal and catalytic cracking)
  - Unifikasi melalui proses alkilasi dan polimerasi
  - Alterasi melalui proses isomerisasi dan *catalytic reforming*
3. Proses Pengolahan (treatment), Proses ini dimaksudkan untuk menyiapkan fraksi-fraksi hidrokarbon untuk diolah lebih lanjut, juga untuk diolah menjadi produk akhir.
4. Formulasi dan Pencampuran (Blending), yaitu proses pencampuran fraksi-fraksi hidrokarbon dan penambahan bahan aditif untuk mendapatkan produk akhir dengan spesifikasi tertentu.
5. Proses-proses lainnya, antara lain meliputi: pengolahan limbah, proses penghilangan air asin (*sour-water stripping*), proses pemerolehan kembali sulfur (*sulphur recovery*), proses pemanasan, proses pendinginan, proses pembuatan hidrogen, dan proses-proses pendukung lainnya.



Gambar 1.1 Proses Kilang Minyak (Risdiyanta, 2015).

Minyak mentah juga mengandung sejumlah senyawa non hidrokarbon, terutama senyawa sulfur, senyawa organik metalik dalam jumlah kecil/trace sebagai larutan dan garam-garam anorganik sebagai suspensi koloidal, yaitu antara lain (Wulandari, 2016).

### **2.1.3 Mekanisme Enzim Lipase**

Sebagian besar lipase dapat aktif pada rentang pH dan temperature yang luas, biasanya lipase dari bakteri banyak yang aktif pada pH basa. Lipase termasuk serin hidrolase dan memiliki stabilitas yang tinggi pada pelarut organik. Beberapa jenis lipase menunjukkan aktivitas chemo-, regio- dan enantioselectivity. Lipase termasuk enzim hidrolase yang bekerja pada lingkungan air pada ikatan ester karboksil yang terdapat pada triasilgliserol untuk memisahkan asam lemak dan gliserol. Substrat alami untuk lipase adalah triasilgliserol rantai panjang yang memiliki kelarutan yang rendah di dalam air, dan reaksi ini dikatalisis pada daerah yang berhubungan antara lipid dan air. Di bawah keadaan yang sedikit air, lipase memiliki kemampuan unik, yaitu melakukan reaksi yang sebaliknya, menyebabkan terjadinya esterifikasi, alkoholisis dan asidolisis. Selain lipolisis, lipase juga memiliki aktivitas esterolitik sehingga mempunyai substrat yang banyak Katalitik triad yang menyusun sisi aktif lipase tersusun atas Ser-Asp/Glu-His dan biasanya sekuen yang tetap (Glyx-Ser-x-Gly) ditemukan di sekitar sisi aktif serine. Struktur tiga dimensi lipase menunjukkan sifat  $\alpha/\beta$  hydrolase fold. Lipase banyak ditemukan di alam dan merupakan produk alami tanaman, hewan maupun mikroorganisme. Lipase yang dihasilkan oleh mikrobia, terutama bakteri dan fungi, merupakan enzim yang paling banyak digunakan di dalam aplikasi bioteknologi dan kimia organik. Beberapa jenis mikrobia penghasil lipase antara lain *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Chromobacterium* dan *Pseudomonas*. Lipase yang dihasilkan oleh bakteri *Pseudomonas* paling banyak digunakan untuk aplikasi bioteknologi (Pramiadi *et al*, 2014).

#### 2.1.4 Mekanisme Enzim Alkana Hidroksilase

Enzim alkana hidroksilase merupakan contoh enzim intraselular yang memiliki kemampuan untuk mengoksidasi berbagai jenis substrat dan mengkatalisasi berbagai jenis reaksi. Enzim alkana hidroksilase mengkatalisis pengenalan satu atom oksigen ke dalam molekul substrat, umumnya memanfaatkan NADH atau NADPH untuk menyediakan potensial reduksi untuk memasok elektron pada substrat. Enzim alkana hidroksilase sering disebut juga cytochrome P450 yang berperan penting dalam sistem metabolik, karena enzim ini terlibat dalam pengaturan senyawa endogen seperti hormon, asam lemak dan steroid. Selain itu, enzim ini juga terlibat dalam reaksi katabolisme dan anabolisme senyawa racun (xenobiotik) seperti limbah, serta terlibat pula dalam reaksi bioaktivasi maupun detoksifikasi. Enzim sitokrom P450 monooksigenase merupakan protein dengan gugus heme dan bekerja mengkatalisis reaksi oksidasi hidrokarbon menggunakan NADPH sebagai kofaktor. Monooksigenase ditemukan di hampir semua organisme aerobik, termasuk organisme yang beragam seperti serangga, tanaman, mamalia, burung dan bakteri. Pada eukariot, kebanyakan cytochrome P450 ditemukan di retikulum endoplasma atau mitokondria. cytochrome P450 di mitokondria menggunakan sistem transport elektron yang berbeda dari cytochrome P450 pada retikulum endoplasma dan lebih erat terkait dengan cytochrome P450 prokariot daripada cytochrome P450 eukariot. Monooksigenase tidak biasa mengoksidasi substrat yang beragam dan mampu mengkatalisis reaksi dalam jumlah besar karena masing-masing spesies mengandung banyak cytochrome P450 dan kekhususan substrat dari beberapa isoform (Scoot, 2008).

Enzim alkana hidroksilase merupakan enzim yang paling banyak ditemukan pada bakteri pendegradasi alkana dan dikode oleh gen *alk*. Enzim ini mengkatalisis oksidasi hidrokarbon dengan rantai C5-C12. Beberapa bakteri memiliki kemampuan untuk mengkatalisis oksidasi alkana rantai C panjang (> C20). Enzim yang berperan dalam kemampuan tersebut adalah enzim *AlkM* (Rojo., 2009). Enzim *AlkM* mampu mengkatalisis reaksi oksidasi rantai C13-C30 dan merupakan protein integral

membran Fe non-heme. Enzim ini membutuhkan NADH sebagai koenzim. Enzim family *AlkB* memiliki dua komponen, yaitu rubredoksin (*AlkG*) dan rubredoksin reduktase (*AlkT*), serta membutuhkan kofaktor berupa Fe. Komponen hidroksilase adalah protein integral membrane sitoplasmik, sedangkan komponen rubredoksin dan rubredoksin reduktase merupakan protein sitoplasma. Kompleks enzimatis mampu mengoksidasi alkana linier rantai medium dengan adanya koenzim NADH atau NADPH (Rojo, 2009).

### **2.1.5 Mekanisme Enzim Dioksigenase**

Enzim dioksigenase berfungsi mengkatalisis penyatuan oksigen ke dalam molekul substrat. Enzim dioksigenase adalah enzim yang mengkatalisis reaksi adisi gugus hidroksil melalui inkorporasi kedua atom O pada O<sub>2</sub> melalui proses oksidasi saat reaksi hidroksilasi poliaromatik berlangsung. Enzim ini memiliki peran dalam degradasi asam amino, dioksigenase juga digunakan dalam pemutusan karbon karbon, umumnya memanfaatkan NADH atau NADPH untuk menyediakan potensial reduksi untuk memasok elektron pada substrat. Reaksi pada oksigenase termasuk cis-dihidroksilasi, pembelahan cincin aromatik, seperti katekol dioksigenase yang menggabungkan kedua atom sebagai kelompok hidroksil pada karbon yang berdekatan dari cincin aromatik, menghasilkan cis-dihidrodiol yang dapat teroksidasi lebih lanjut menjadi produk cincin aromatik yang terbuka (Burton, 2013).

### **2.1.6 Ekoenzim**

#### **2.1.6.1. Proses Pembuatan Ekoenzim**

Ekoenzim merupakan cairan fermentasi dari sampah rumah tangga yang pertama kali dikenalkan oleh Dr. Rosukon Poompoanvoang 1980 yaitu pendiri Asosiasi Pertanian Organik Thailand yang aktif mengenai penelitian ecoenzim selama 30 tahun, kemudian pada Tahun 2006, ecoenzim dipublikasikan lebih luas oleh Dr. Joen Oon seseorang periset Naturopathy dari Penang, Malaysia yang merupakan murid dari Dr. Rosukon Poompoanvong. Berdasarkan dari hasil penelitian mengenai pengelolaan sampah makanan menjadi enzim ramah lingkungan dan untuk

pengolahan ekoenzim dari limbah ataupun sampah organik yang umumnya kita buang pada tempat sampah, yang dapat dibuat sebagai pembersih organik, ataupun sebagai pembersih rumah tangga (Nazim, 2013). Ekoenzim diproduksi dari fermentasi sampah organik yang terdiri dari sayuran, buah segar, air dan gula merah atau molase (Nazim dan Meera, 2015). Pembuatan ekoenzim hanya membutuhkan air, gula merah sebagai sumber karbon juga sampah-sampah organik sayuran dan buah-buahan dengan perbandingan 10:1:3 (Prasetio *et al.*, 2021). Larutan ecoenzim menghasilkan warna coklat pekat dan mempunyai aroma fermentasi yang khas asam segar yang kuat, memiliki pH sebesar 3,5 (Sembiring *et al.*, 2022). Ecoenzim terbentuk setelah tiga bulan melalui proses fermentasi menggunakan limbah padat organik dan dapat dijadikan sebagai solusi potensial untuk mengelolah air limbah (Hemalatha dan Visantini, 2020).

#### **2.1.6.2 Kandungan Ekoenzim**

Khadka dan Neupane (2019) proses fermentasi kulit buah menghasilkan cairan dengan protein alami, garam mineral dan Ekoenzim setelah 3 bulan fermentasi dilaporkan mengandung asam asetat, alkohol, asam propionat sebagai komponen utama (Upadhyay *et al.* 2018). Kandungan asam propionat yang dapat mencegah pertumbuhan mikroorganisme, cairan ekoenzim ini efektif digunakan sebagai pengawet makanan. Selain itu bisa digunakan sebagai insektisida atau pestisida untuk menghancurkan organisme karena terdapat asam asetat yang terkandung dalam ecoenzim (Nazim dan Meera, 2017).

#### **2.1.6.3 Manfaat Ekoenzim**

Ekoenzim yang dihasilkan dari proses sesuai standar yang di sarankan akan mempunyai manfaat yang sangat banyak (Prasetio *et al.*, 2021). Manfaat ekoenzim di rumah tangga dapat digunakan seperti mencuci buah dan sayur, mencuci pakaian, sabun mandi, sampo, membersihkan toilet, membersihkan perkakas yang kotor atau berkarat, pupuk tanaman hias, memandikan hewan peliharaan, disinfektan, hand

sanitizer dan lain-lain (Rusdianasari *et al.*, 2021). Pemanfaatan ekoenzim untuk lingkungan, diantaranya membersihkan perairan (parit, got, sungai danau dll), membersihkan udara (disemprotkan ke udara), memperbaiki kualitas tanah, sebagai pupuk tanaman dan banyak lagi manfaat yang lain (Safitri, *et al.*, 2021; Widyastanti dan Widyaningrum, 2022). Manfaat ekoenzim untuk pengolahan air limbah kimia, mengurangi limbah oli motor bekas (Bulai *et al.*, 2021; Nurfajriah *et al.*, 2021). Manfaat ekoenzim untuk pengolahan tanah pertanian yang tercemar logam berat (Zainudin dan Roro, 2022).

## **2.1.7 Kulit Nanas**

### **2.1.7.1 Morfologi Kulit Nanas**

Tanaman nanas termasuk golongan *perennial* (tahunan). Tanaman ini digolongkan ke dalam kelas monokotil bersifat tahunan yang mempunyai rangkaian bunga dan buah terdapat pada di ujung batang, tubuhnya meluas dengan menggunakan tunas samping yang berkembang menjadi cabang-cabang vegetatif, dimana cabang menghasilkan buah. Sundari, (2020) mengatakan bagian tanaman nanas yaitu akar, batang, daun, tangkai buah, buah dan mahkota.

- a) Akar nanas dapat dibedakan menjadi akar tanah dan akar samping. Pangkal batang adalah tempat melekatnya akar. Kedalam akar yang berada pada tanah adalah 30-50 cm.
- b) Batang merupakan tempat melekatnya akar, daun, bunga, tunas dan buah. Batang tanaman nanas cukup panjang 20-25 cm, tebal dengan diameter 2,0-3,5 cm beruas-ruas pendek.
- c) Daun nanas memiliki panjang 130-150 cm, lebar antara 3-5 cm, daun berduri tajam meskipun ada yang tidak berduri dan tidak memiliki tulang daun. Jumlah daun tiap batang sangat bervariasi antara 70-80 helai.
- d) Bunga dari tumbuhan nanas bersifat hermiprodit dan mempunyai kedudukan di ketiak daun pelindung. Waktu yang diperlukan untuk pertumbuhan bunga dari

bagian dasar menuju bagian atas membutuhkan sekitar 10-20 hari untuk pertumbuhan dari menanam sampai berbentuk bunga.

Tanaman nanas termasuk tanaman kering yang memiliki penyimpanan air. Nanas termasuk dalam tanaman CAM. Pada saat terjadi fotosintesis CO<sub>2</sub> masuk ke dalam asam organik dan diikuti oleh transfer CO<sub>2</sub> kedalam siklus *Calvin* yang hanya dipisahkan untuk sementara waktu. Proses fiksasi karbon ke dalam asam organik terjadi pada saat malam hari dan menutup stomata pada siang hari serta pada sel mesofilnya mampu menyimpan asam organik yang dibuat pada vakuola ketika malam hari sampai dengan pagi (Rochyani, *et al.*, 2020).

#### **2.1.7.2 Kandungan Kulit Nanas**

Kulit nanas mengandung flavonoid dan bromelin (Punbasayakul *et al.*, 2018). Selain itu, kulit nanas mengandung senyawa tannin, oxalat dan pitat (Dabesor *et al.*, 2017). Flavonoid dapat menyebabkan penghambatan terhadap sintesis asam nukleat. Selain itu, flavonoid juga menghambat metabolisme energi dari bakteri. Oleh karena itu flavonoid merupakan komponen antibakteri yang potensial (Xie *et al.*, 2015). Bromelin merupakan enzim proteolitik yang dapat memecah molekul protein. Bromelin dapat memecah molekul protein.

Bromelin dapat memutuskan ikatan protein pada bakteri sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Amini *et al.*, 2018). Aktivitas spesifitas dan produksi dari enzim bromelin lebih banyak pada bagian kulit nanas dibandingkan dengan buah dan batang (Mohapatra *et al.*, 2013). Kulit buah nanas diketahui cukup banyak mengandung gula, sehingga bisa digunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan ecoenzim.

Menurut Harahap *et al.*, 2019 kandungan gizi kulit buah nanas terdiri dari karbohidrat 10,54% - 17,53% terbagi menjadi tiga yaitu: monosakarida (glukosa dan fruktosa), disakarida (sukrosa, maltose dan laktosa) dan polisakarida (amilum, glikogen dan selulosa), protein 4,41%, gula reduksi 11,40% - 13,65%, kadar

air 81,72% - 86,7% dan serat kasar 20,87%. Mengingat kandungan gula yang cukup tinggi tersebut maka kulit nanas memungkinkan untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan ecoenzim melalui proses fermentasi (Ramadani *et al.*, 2019; Hamad *et al.*, 2017; dan Rizal *et al.*, 2020).

#### **2.1.7.3 Limbah Kulit Nanas**

Indonesia merupakan Negara penghasil nanas terbesar kelima di dunia setelah Thailand, Costa Rica, Brazil, Filipina (UNCTAD, 2016) dan Provinsi Lampung sendiri memberi kontribusi terbesar di Indonesia (Kementrian Pertanian RI, 2016). Industri makanan di Indonesia mengolah buah ini menjadi produk baru dan selanjutnya menghasilkan limbah yang menyebabkan masalah lingkungan. Kira-kira satu berat total buah nanas adalah 1050 gram dimana 229 gramnya (21,9%) adalah limbah kulit (Mulyono, 2013). Nanas termasuk salah satu komoditas buah unggulan dengan jumlah produksi 1,73 juta ton di Tahun 2015. Di dunia internasional, Indonesia menjadi penghasil nanas dengan berkontribusi sebesar 23% yang dipanen dari kebun di lima provinsi dengan jumlah produksi tinggi yaitu: Lampung (32,77%), Sumatera Utara (12,78%), Jawa Barat (10,39%), Jawa Timur (8,92%), dan Jambi (8,23%) (Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian, 2016). Tingginya produksi nanas diikuti oleh melimpahnya sampah kulit nanas yang dihasilkan dari aktivitas pengolahan nanas (Lubis *et al.*, 2014).

#### **2.1.7.4 Pemanfaatan Kulit Nanas**

Menurut jurnal Ramadani, *et al.*, (2019) kulit nanas bisa dimanfaatkan sebagai olahan salah satu bahan dasar pupuk yang kemudian digunakan kembali oleh petani dapat mengurangi biaya operasional pertanian nanas. Pakan ternak ruminansia akan memberi nilai tambah dan sekaligus dapat mendorong berkembangnya usaha ternak komersial. Kulit nanas sebagai bahan baku bioethanol. Kulit nanas dapat digunakan sebagai bahan pembuatan dari ecoenzim (Lestari dan Mulyaningsih, 2021).

## **2.2 Hipotesis**

H0 : ekoenzim limbah kulit nanas tidak efektifitas terhadap remediasi minyak mentah di air.

H1 : ekoenzim limbah kulit nanas efektifitas terhadap remediasi minyak mentah di air.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Tempat dan Waktu**

Penelitian aplikasi ekoenzim untuk remediasi minyak mentah dilaksanakan di dua lokasi yaitu pengambilan sampel di Pantai Jenu Tuban dan pengujian perlakuan di Laboratorium Biologi. Pengambilan sampel minyak dan air laut Pantai Jenu di Kabupaten Tuban. Pengujian perlakuan di Laboratorium Biologi, Universitas Muhammadiyah Lamongan.

#### **3.2. Bahan dan Alat**

##### **3.2.1. Bahan**

*Nutrient agar* (NA), akuades pH 7, buffer fosfat pH 7, kulit nanas, gula merah, spirtus, asam oleat, minyak zaitun, N-heksana, HCL, reagen tembaga (II) asetat, kapas, kasa, kertas roti, plastik wrap, aluminium foil, buffer Tris-HCl, NADH, DMSO, toluene, heksadekana dan tisu.

##### **3.2.2. Alat**

Spektrofotometer, termometer, pH meter, DO (*Dissolved Oxygen*) meter, autoklaf, inkubator, cawan petri, tabung reaksi, pipet volume, gelas ukur, mikropipet + tip, *hot plate*, magnetik stirrer, corong pisah, LAF, water bath, refraktometer, botol kaca, jerigen, vortex, visikometer, piknometer dan rak tabung reaksi.

#### **3.3. Cara Kerja**

##### **3.3.1 Pembuatan Ekoenzim**

Perbandingan 10:3:1 yakni 10 untuk air, 3 untuk kulit nanas dan 1 untuk gula sudah tercampur di tutup rapat dan di simpan selama 3 bulan (Upadhyay *et al.*, 2018).

### 3.3.2 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel air di Pantai Jenu Tuban dan minyak diambil di Kabupaten Tuban. Pengambilan sampel air menggunakan jerigen hingga penuh dengan air laut, sedangkan sampel minyak diambil dengan botol kaca.

### 3.3.3 Desain Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam skala laboratorium dengan metode penelitian eksperimental, yaitu menggunakan percobaan untuk melihat pengaruh variabel yang diteliti. Perlakuan dilakukan dengan mencampurkan ecoenzim ditambah sampel air dan minyak yang sesuai dengan konsentrasi yang sudah ditentukan pada Tabel 3.1. Masing-masing kultur dilakukan 3 kali pengulangan. Pengamatan dilakukan pada hari Ke-7, Ke-14 dan hari Ke-21 setelah perlakuan kontaminasi.

**Tabel 3.1 Konsentrasi Perlakuan Ecoenzim** (Dimodifikasi dari Wayoi, 2018).

No	Variasi Kadar Kontaminasi & Ekoenzim (A)	Kultur Perlakuan (B)	
		Goyang (B1)	Diam (B2)
1.	0 ppm dan tanpa ecoenzim	A1B1	A1B2
2.	350 ppm dan tanpa ecoenzim	A2B1	A2B2
3.	0 ppm dan ecoenzim 25%	A3B1	A3B2
4.	250 ppm dan ecoenzim 15%	A4B1	A4B2
5.	250 ppm dan ecoenzim 20%	A5B1	A5B2
6.	250 ppm dan ecoenzim 25%	A6B1	A6B2
7.	300 ppm dan ecoenzim 15%	A7B1	A7B2
8.	300 ppm dan ecoenzim 20%	A8B1	A8B2
9.	300 ppm dan ecoenzim 25%	A9B1	A9B2
10.	350 ppm dan ecoenzim 15%	A10B1	A10B2
11.	350 ppm dan ecoenzim 20%	A11B1	A11B2
12.	350 ppm dan ecoenzim 25%	A12B1	A12B2

### **3.3.4 Pengukuran Perlakuan**

#### **3.3.4.1. Pengukuran Suhu**

Sampel perlakuan air dituang kedalam gelas beaker sebanyak 50 ml. selanjutnya termometer skala 100°C dicelupkan kedalam sampel. Setelah 2-3 menit skala termometer dibaca dan dicatat temperaturnya (Latupeirissa, 2020).

#### **3.3.4.2. Pengukuran pH**

Menentukan pH dilakukan dengan cara mencelupkan pH meter kedalam titik sampel air kemudian ditunggu sampai angka yang ada pada layar pH meter stabil (tidak berubah) kemudian mencatat angka pada tampilan dari layar pH meter (Septi, 2022).

#### **3.3.4.3 Pengukuran Salinitas**

Pengukuran nilai salinitas dengan alat ukur berupa refraktometer. Refraktometer dibersihkan menggunakan akuades pH 7. Pengukuran dilakukan dengan cara mengambil setiap sampel air menggunakan pipet, kemudian di letakkan di atas permukaan kaca yang terdapat pada refraktometer. Hasil angka yang ada pada refraktometer diamati, angka yang merupakan kadar salinitas yaitu angka yang ditunjukkan dengan batasan warna biru dan putih (Mainassy, 2017; dan Nurhidayati,*et al.*, 2021).

#### **3.3.4.4 Pengukuran DO (*Dissolved Oxygen*)**

Pengukuran oksigen terlarut dilakukan menggunakan alat DO meter. Alat DO meter dikalibrasi dengan akuades pH 7. Sampel dimasukkan kedalam gelas beaker, kemudian diukur menggunakan alat DO meter dengan menekan mode dan range mg/l. Selanjutnya ditunggu hingga stabil selama 1 menit dan dicatat, kemudian dibilas menggunakan akuades pH 7 dan dikeringkan menggunakan tisu (Fadzry *et al.*, 2020).

#### **3.3.4.5. Pengukuran Mikroba**

##### **3.3.4.1. Persiapan Media**

Pembuatan media NA pada penelitian ini dilakukan dengan menimbang sebanyak 10 gram media NA yang dilarutkan kedalam 500 ml akuades, kemudian

dipanaskan di atas *hot plate* hingga mendidih. Setelah mendidih dan media larut kemudian di autoklaf dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. (Jumariah, 2022).

### 3.3.4.2 Metode Cawan Tuang

Pada metode cawan tuang pada 3 sampel dari konsentrasi perlakuan dengan melakukan pengenceran. Masing-masing sampel diambil 1 ml diencerkan secara bertingkat dari  $10^{-1}$  sampai dengan  $10^{-4}$  dengan akuades dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Perbandingan antara air sampel dan akuades dalam pengenceran seri yaitu 1:9 yang berarti 1 ml sampel air dan 9 ml akuades. Menurut Wasten dan Hornes (2009) dalam Yunita *et al* (2015) tujuan dari pengenceran bertingkat adalah mengurangi mikroba dalam cairan dengan melakukan pengenceran 1:9 sehingga didapatkan 1/10 sel mikroorganisme dari pengenceran. Selanjutnya, pengenceran  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  dan  $10^{-4}$  di tabung reaksi ke dalam media yakni dengan cara menungkan 1 ml sampel ke dalam tabung reaksi steril dengan mikropipet, NA cair di taruh di cawan petri. Cawan petri yang sudah dimasukkan media dan sampel kemudian diputar dalam bentuk angka delapan, setelah mengeras, cawan petri di bungkus dengan plastic wrap kemudian diinkubasi pada suhu 30 °C selama 24 jam (Yunita *et al*, 2015).

Menurut Hartanti, 2013 bahwa perhitungan jumlah jumlah bakteri dilakukan pada cawan yang mengandung 25 hingga 300 jumlah bakteri sesuai dengan SNI 01-2332.3-2006 tentang pengujian angka lempeng total. Hasil perhitungan jumlah jumlah bakteri kemudian dimasukkan kedalam rumus:

$$V = n \times \frac{1}{f} \text{ (CFU/ml)} \dots \dots \dots (3.1)$$

Keterangan:

- V = jumlah sampel yang ditumbuhkan
- n = jumlah koloni dalam cawan
- f = faktor pengenceran

### 3.3.4.6. Pengukuran TPH ( *Total Petroleum Hydrocarbon* )

Padatan atau cairan sebanyak 10 ml dimasukkan ke dalam Erlenmeyer ditambah 15 ml n-heksana di kocok dalam corong pisah selama 5 menit dan di ambil lapisan limbah minyak dan n-heksana di masukkan ke dalam gelas beaker 50 ml di timbang. Kemudian di uapkan dalam oven pada suhu 70°C selama 45 menit sampai hanya tersisa limbah oli. Setelah itu didinginkan dan ditimbang (Pratama, 2017).

$$\%TPH(g/ml) = \frac{\text{bobot minyak (g)}}{\text{volume sampel (ml)}} \times 100\% \dots\dots\dots (3.2)$$

### 3.3.4.7. Pengukuran Viskositas

Alat viscometer *Ostwald* dimasukkan sediaan melalui tabung A dihisap agar masuk ke tabung B, tepat sampai batas A dan siapkan stopwatch. mencatat waktu yang dibutuhkan untuk mengalir dari garis A ke garis B. Viscometer di bersih dan dikeringkan kembali. Melakukan hal yang sama dengan menggunakan sampel perlakuan yang berbeda. Menghitung bobot jenis cairan dengan menggunakan piknometer (Irawati *et al.*, 2017).

$$\frac{\eta^1}{\eta^2} = \frac{\rho^1 t^1}{\rho^2 t^2} \dots\dots\dots (3.3)$$

Keterangan:

- $\eta^1$  = Viskositas zat uji
- $\eta^2$  = Viskositas cairan pembanding
- $\rho^1$  = Berat jenis zat uji
- $\rho^2$  = Berat jenis cairan pembanding
- $t^1$  = Waktu uji
- $t^2$  = Waktu cairan pembanding

### 3.3.4.8. Pembuatan larutan buffer 20 mM Tris-HCl

Sebanyak 3,79 g Tris dilarutkan dalam 800 ml akuabides dan pH larutan diset hingga pH 7 melalui penambahan HCl pekat. Kemudian ditambahkan akuabides hingga volume larutan mencapai 1000 ml sehingga didapatkan larutan buffer 31,25

mM Tris-HCl sebagai larutan stok. Buffer ini kemudian diencerkan untuk didapatkan buffer Tris-HCl 20 mM (Mishra *et al.*, 2012; Jauhari *et al.*, 2014).

### 3.3.4.9 Uji aktivitas enzim alkane hidroksilase

Pengukuran aktivitas enzim alkane hidroksilase dilakukan dalam 2 seri, yaitu dengan penambahan NADH dan tanpa NADH. Pengukuran aktivitas enzim alkane hidroksilase dengan penambahan NADH Campur reaksi mengandung buffer Tris-HCl 20 mM; NADH 0,1 mM ; larutan heksadekana (1% heksadekana dalam 80% DMSO), ekoenzim 5µl ke dalam campuran reaksi diinkubasi selama 15 menit. Sedangkan aktivitas enzim alkane hidroksilase tanpa NADH dilakukan dengan membuat campuran reaksi buffer Tris-HCl 20 mM; larutan heksadekana (1% heksadekana dalam 80% DMSO), ekoenzim 5µl, dimana total campuran reaksi 1 mL dengan penambahan akuades. Aktivitas enzim diukur berdasarkan penurunan absorbansi NADH pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 340 nm. Penurunan absorbansi NADH didapatkan sari selesai NADH awal yang diinkubasi selama 0 menit dengan NADH akhir dengan campuran reaksi yang diinkubasi selama 15 menit. Satu unit aktivitas enzim alkane hidroksilase merupakan jumlah enzim dalam mengoksidasi 1 µmol NADH per menit. Berdasarkan aktivitas enzim sama dengan U/mL enzim.

Blanko untuk spektrofotometer adalah : buffer Tris-HCl 20 mM; NADH 0,1 mM ; larutan heksadekana (1% heksadekana dalam 80% DMSO), serta ekstrak enzim kasar yang berasal dari perlakuan di tambahkan aquades dan diinkubasi selama 0 menit. (Mishra *et al.*, 2012; Jauhari *et al.*, 2014).

Rumus

Absorbansi tes absolut = Absorbansi tes- absorbansi blanko

$\Delta A_{340}$  = Absorbansi NADH awal – Absorbansi tes absolut

$$\text{Aktivitas enzim (U/ml)} = \frac{\Delta A_{340} \times V_e \text{ (mL)}}{\alpha_{340} \text{ (mL } \mu\text{mol}^{-1}) \times V_s \text{ (mL)} \times t \text{ (menit)} \times l \text{ (cm)}} \dots\dots\dots (3.4)$$

Keterangan :

$\alpha_{340}$  : absortivitas molar NADH

- $V_e$  : Volume total reaksi  
 $V_s$  : Volume sampel enzim  
 $t$  : waktu inkubasi  
 $l$  : *Pathlength*, sebesar 1 cm

#### 3.3.4.10 Uji aktivitas enzim dioksigenase

Pengukuran aktivitas enzim alkane hidroksilase dilakukan dalam 2 seri, yaitu dengan penambahan NADH dan tanpa NADH. Pengukuran aktivitas enzim dioksigenase. Campuran reaksi mengandung buffer Tris-HCl 20 mM; NADH 0,1 mM; larutan toluena (1% toluena dalam 80% DMSO), ekoenzim 5 $\mu$ l. Reaksi dimulai dengan menambahkan 2  $\mu$ L larutan toluena ke dalam campuran reaksi diinkubasi selama 5 menit. Sedangkan aktivitas enzim alkane hidroksilase tanpa NADH dilakukan dengan membuat campuran reaksi mengandung buffer Tris-HCl 20 mM; larutan toluena (1% toluena dalam 80% DMSO), ekoenzim 5 $\mu$ l dimana total campuran reaksi mL dengan penambahan akuades. Aktivitas enzim diukur berdasarkan penurunan absorbansi NADH pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 340 nm. Penurunan absorbansi NADH didapatkan sari selesai NADH awal yang diinkubasi selama 0 menit dengan NADH akhir dengan campuran reaksi yang diinkubasi selama 15 menit. Satu unit aktivitas enzim alkane hidroksilase merupakan jumlah enzim dalam mengoksidasi 1  $\mu$ mol NADH per menit. Berdasarkan aktivitas enzim sama dengan U/mL enzim (Singh *et al.*, 2013; Mishra *et al.*, 2014).

Absorbansi tes absolut = Absorbansi tes- absorbansi blanko

$\Delta A_{340}$  = Absorbansi NADH awal – Absorbansi tes absolut

$$\text{Aktivitas enzim (U/ml)} = \frac{\Delta A_{340} \times V_e \text{ (mL)}}{\alpha_{340} \text{ (mL } \mu\text{mol}^{-1}) \times V_s \text{ (mL)} \times t \text{ (menit)} \times l \text{ (cm)}} \dots\dots\dots(3.5)$$

Keterangan :

- $\alpha_{340}$  : absortivitas molar NADH  
 $V_e$  : Volume total reaksi  
 $V_s$  : Volume sampel enzim  
 $t$  : waktu inkubasi

l : Pathlength, sebesar 1 cm

#### **3.3.4.11 Uji aktivitas enzim lipase**

Pembuat kurva standar dengan menggunakan beberapa variasi konsentrasi asam oleat. Konsentrasi yang digunakan adalah konsentrasi 2,4 6 8 10 (g/ml) Variasi konsentrasi tersebut dibuat dengan menggunakan larutan standar asam oleat 3,168 M, larutan tersebut diambil sebanyak 1; 2; 3; 4;5 mL lalu diencerkan dengan heksana sampai 10 mL. Campurkan selanjutnya diambil 4 mL dan ditambahkan reagen tembaga (II) asetat 1 mL aduk 1 menit. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 715 nm. Penentuan aktivitas lipase dilakukan dengan metode Kwon dan Rhee, yaitu substrat yang digunakan dalam metode ini adalah minyak zaitun. Minyak zaitun sebanyak 1 mL, ditambahkan dengan 1 mL buffer fosfat pH 7 dan 1 mL larutan enzim. Campuran ini di vortek selama 10 menit dan selanjutnya di inkubasi pada waterbath selama 20 menit. Selanjutnya campuran ditambahkan 1 mL HCL 6 N dan 5 ml heksana. Campuran selanjutnya dikocok kuat dengan vortek tube dan lapisan atas diambil sebanyak 4 L, kemudian ditambahkan 1 mL reagen tembaga (II) asetat dan diaduk 1 menit. Campuran diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 715 nm. Aktivitas lipase diukur pada suhu inkubasi yang bervariasi yaitu suhu 30 °C, 35 °C, 40 °C,45 °C dan 50 °C dengan menggunakan inkubator dan masing-masing variasi diperlakukan sama seperti penentuan aktivitas yang sebelumnya (Supriyatna *et al.*, 2015).

### **3.4. Variabel**

Penelitian ini memiliki variable yaitu :

**3.4.1. Variabel Bebas :** Ecoenzim (Jenis enzim dan aktivitas enzim)

**3.4.2. Variaber Terikat :** Minyak (parameter yang diukur TPH, Viskositas dan Analisis Degradasi); Air (parameter yang diukur: pH, DO, Suhu, Mikroba Air dan Salinitas).

**3.4.3. Variabel Terkontrol:** (1) lokasi asal sampel air ; (2) lokasi asal minyak mentah.

### **3.5. Cara Analisis Data**

Data yang diperoleh direkapitulasi pada tabel pengamatan yang tersedia di lampiran 2. Data diolah dan diuji dengan metode statistik dengan ANOVA apabila terdapat beda nyata dilanjutkan dengan uji Duncan. Penyimpulan hasil riset ecoenzim yang terbuat dari limbah kulit nanas sebagai pengurangai kontaminasi minyak diambil dari hasil uji hipotesis.

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil Penelitian

#### 4.1.1 Kosentrasi Efektivitas Ekoenzim Remediasi Kontaminasi Minyak Mentah

Hasil dari perhitungan efektivitas ekoenzim remediasi kontaminasi minyak mentah pada kultur goyang dan diam pada hari ke-7, ke-14 dan ke-21. Minyak mentah di tambahkan pada kultur goyang dan diam dengan kosentrasi yang diberikan meliputi 0, 250, 300, 350 ppm dengan kosentrasi ekoenzim sebesar 15%, 20% dan 25% didapatkan hasil sebagai berikut: Seluruh parameter air dan minyak kemudian diuji statistic menggunakan uji Anova tertera pada tabel 4.1 dan hasil uji lanjut tertera pada tabel 4.2 dan tabel 4.3

Tabel 4.1 Uji *One Way Anova*

Parameter	Goyang Nilai Sig	Diam Nilai Sig
Suhu	0.898	0.229
Oksigen Terlarut (DO)	0.000*	0.000*
pH	0.000*	0.000*
Salinitas	0.813	0.621
TPH	0.000*	0.000*
Jumlah Bakteri (TPC)	0.447	0.000*
Viskositas	0.212	0.284

Keterangan : (\*) menunjukkan uji *One Way Anova* yang signifikan ( $p < 0.05$ ).

Dari tujuh parameter pada kultur goyang dan diam. Kultur goyang terdapat tiga parameter menunjukkan rerata yang berbeda nyata antara parameter oksigen terlarut, pH dan TPH, sedangkan pada kultur diam kultur diam terdapat empat parameter yang menunjukkan rerata yang berbeda nyata antara parameter oksigen terlarut, pH, TPH dan jumlah bakteri. Ini menunjukkan bahwa pemberian ekoenzim memberikan pengaruh terhadap tiga dan empat parameter tersebut. Untuk mengetahui kosentrasi beberapa parameter yang paling memberikan pengaruh, maka dilakukan uji lanjut Duncan.

Tabel 4.2 Uji lanjut perlakuan kultur goyang

<b>Perlakuan</b>	<b>DO</b>	<b>pH</b>	<b>TPH</b>
A1B1	9.76 ± 0.96a	6.54 ± 0.28d	0.00 ± 0.00a
A2B1	11.31 ± 1.09bc	6.60 ± 0.23d	0.14 ± 0.36d
A3B1	11.31 ± 2.07bc	5.44 ± 0.18c	0.00 ± 0.00a
A4B1	13.54 ± 0.87d	5.30 ± 0.98ab	0.14 ± 0.02d
A5B1	13.15 ± 0.67d	5.29 ± 0.72ab	0.05 ± 0.02b
A6B1	16.77 ± 1.80e	5.29 ± 0.71ab	0.21 ± 0.22e
A7B1	12.24 ± 1.21cd	5.30 ± 0.77ab	0.49 ± 0.07f
A8B1	10.54 ± 1.49ab	5.25 ± 0.64ab	0.19 ± 0.02e
A9B1	9.87 ± 1.11ab	5.21 ± 0.52ab	0.04 ± 0.01b
A10B1	9.33 ± 1.65a	5.36 ± 0.07bc	0.09 ± 0.04c
A11B1	10.50 ± 1.68ab	5.27 ± 0.10ab	0.03 ± 0.02b
A12B1	11.81 ± 2.00d	5.17 ± 0.08a	0.98 ± 0.23c

Keterangan : Huruf (a,b,c,d,e,f) yang berbeda dalam satu kolom menunjukkan perbedaan nyata ( $\rho < 0.05$ ) dengan menggunakan uji Duncan.

Dari hasil uji lanjut diketahui bahwa untuk parameter DO paling menentukan yaitu A6B1 dan A7B1, parameter pH paling menentukan adalah A3B1 dan A12B1 dan untuk parameter degradasi minyak yang diukur dari nilai TPH dapat disimpulkan bahwa perlakuan dengan kultur goyang paling efektif antara lain A7B1.

Tabel 4.3 Uji lanjut perlakuan kultur diam

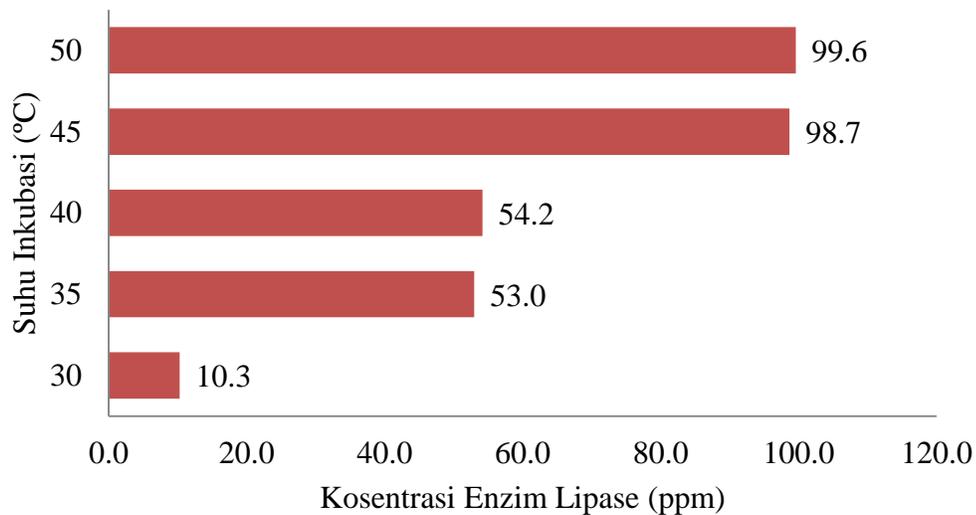
<b>Perlakuan</b>	<b>DO</b>	<b>pH</b>	<b>TPH</b>	<b>Jumlah bakteri</b>
A1B2	9.68 ± 0.40bcd	6.56 ± 0.13e	0.00 ± 0.00a	16.43 ± 17.06a
A2B2	9.90 ± 0.35bcd	6.42 ± 0.11d	0.22 ± 0.52cd	27.93 ± 32.30ab
A3B2	11.41 ± 1.66def	5.44 ± 0.10bc	0.00 ± 0.00a	121.93 ± 88.08bc
A4B2	10.50 ± 3.12cdef	5.27 ± 0.06a	0.31 ± 0.18de	142.66 ± 103.45c
A5B2	12.86 ± 4.14efg	5.48 ± 0.18bc	0.05 ± 0.03ab	198.00 ± 61.28c
A6B2	13.26 ± 4.63fg	5.35 ± 0.11bc	0.20 ± 0.02bcd	227.33 ± 12.01c

A7B2	12.05±2.93defg	5.28 ± 0.07a	0.41 ± 0.23ef	364.66 ±200.39d
A8B2	13.62 ± 3.72g	5.35±0.11ab	0.49 ± 0.36f	191.70 ±188.34c
A9B2	10.03±3.06bcde	5.40 ± 0.19ab	0.08 ± 0.01abc	153.00 ± 14.79c
A10B2	6.66 ± 2.30a	5.56 ± 0.26c	0.07 ± 0.01ab	163.86± 125.01c
A11B2	7.35 ± 2.73bc	5.45±0.13bc	0.10 ± 0.12abc	238.66 ± 67.00c
A12B2	7.92 ± 2.03abc	5.42±0.10abc	0.09 ± 0.01abc	164.20 ± 129. 05c

Huruf (a,b,c,d,e,f) yang berbeda dalam satu kolom menunjukkan perbedaan nyata ( $p < 0.05$ ) dengan menggunakan uji Duncan.

Dari hasil uji lanjut diketahui bahwa untuk parameter DO paling menentukan yaitu A8B2, parameter pH paling menentukan adalah A1B2 dan A2B2, parameter TPH paling menentukan adalah A8B2 dan untuk parameter koloni bakteri paling menentukan adalah A7B2.

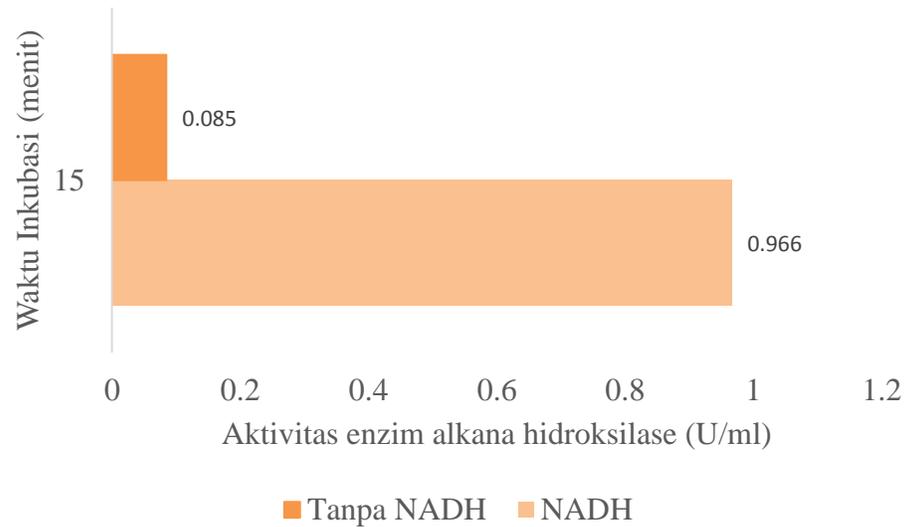
#### 4.1.2 Jenis Enzim Pada Ekoenzim Kulit Nanas



Gambar 4.1 Grafik Konsentrasi Enzim Lipase

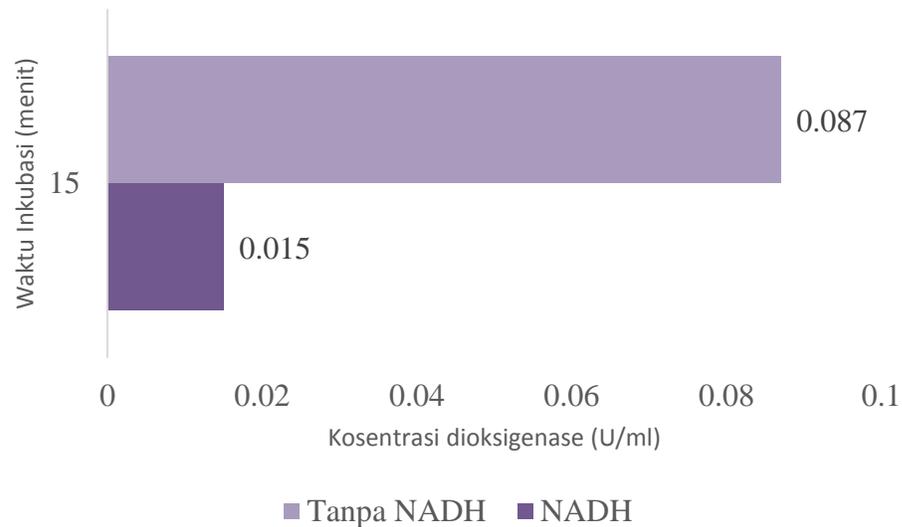
Hasil dari penelitian jenis konsentrasi enzim lipase dari ekoenzim kulit nanas dengan variasi suhu inkubasi didapatkan hasil 30°C bernilai 10.303 g/ml, suhu 35°C bernilai 53.030 g/ml, suhu 40°C bernilai 54.242 g/ml, suhu 45°C bernilai 98.787 g/ml,

suhu 50°C bernilai 99.696 g/ml. Gambar 4.1 menunjukkan konsentrasi enzim lipase yang lebih tinggi didapatkan dari suhu 50°C dengan konsentrasi 99.696 g/ml.



Gambar 4.2 Grafik Aktivitas Enzim Alkana Hidroksilase

Hasil dari penelitian jenis aktivitas enzim alkana hidroksilase dari ekoenzim kulit nanas dengan variasi inkubasi waktu 15 menit NADH dan tanpa NADH memiliki nilai aktivitas enzim NADH 0.966 U/ml dan tanpa NADH 0.085 U/ml. Gambar 4.2 menampilkan aktivitas enzim alkana hidroksilase NADH memiliki nilai tertinggi 0.966 U/ml.



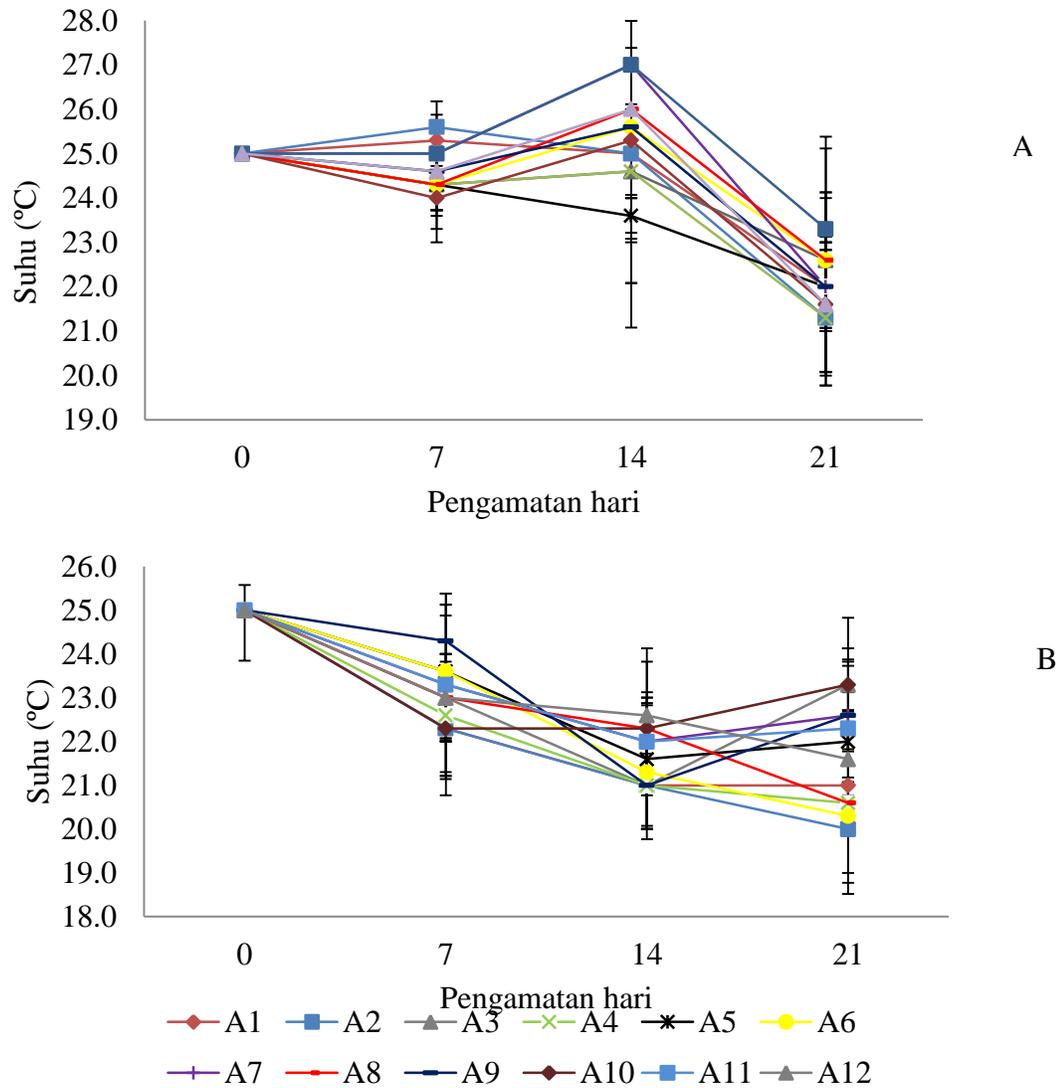
Gambar 4.3 Grafik Aktivitas Enzim Dioksigenase.

Hasil dari penelitian jenis aktivitas enzim dioksigenase dari ekoenzim kulit nanas dengan variasi inkubasi waktu 15 menit NADH dan tanpa NADH memiliki nilai aktivitas enzim NADH 0.087 U/ml dan tanpa NADH 0.015 U/ml. Gambar 4.2 menampilkan aktivitas enzim dioksigenase tanpa NADH memiliki nilai 0.087 U/ml.

#### 4.1.3 Proses Remediasi Minyak Mentah Oleh Ekoenzim

Penelitian mengenai proses remediasi minyak mentah oleh ekoenzim dilakukan dengan kultur goyang dan kultur diam. Perubahan diamati pada hari ke- 0, ke-7, ke-14 dan ke-21. Minyak mentah di tambahkan pada kultur goyang dan diam dengan konsentrasi yang diberikan meliputi 0, 250, 300, 350 ppm dengan konsentrasi ekoenzim sebesar 15%, 20% dan 25%.

#### 4.1.3.1 Pengaruh Perlakuan Ekoenzim Terhadap Suhu Air

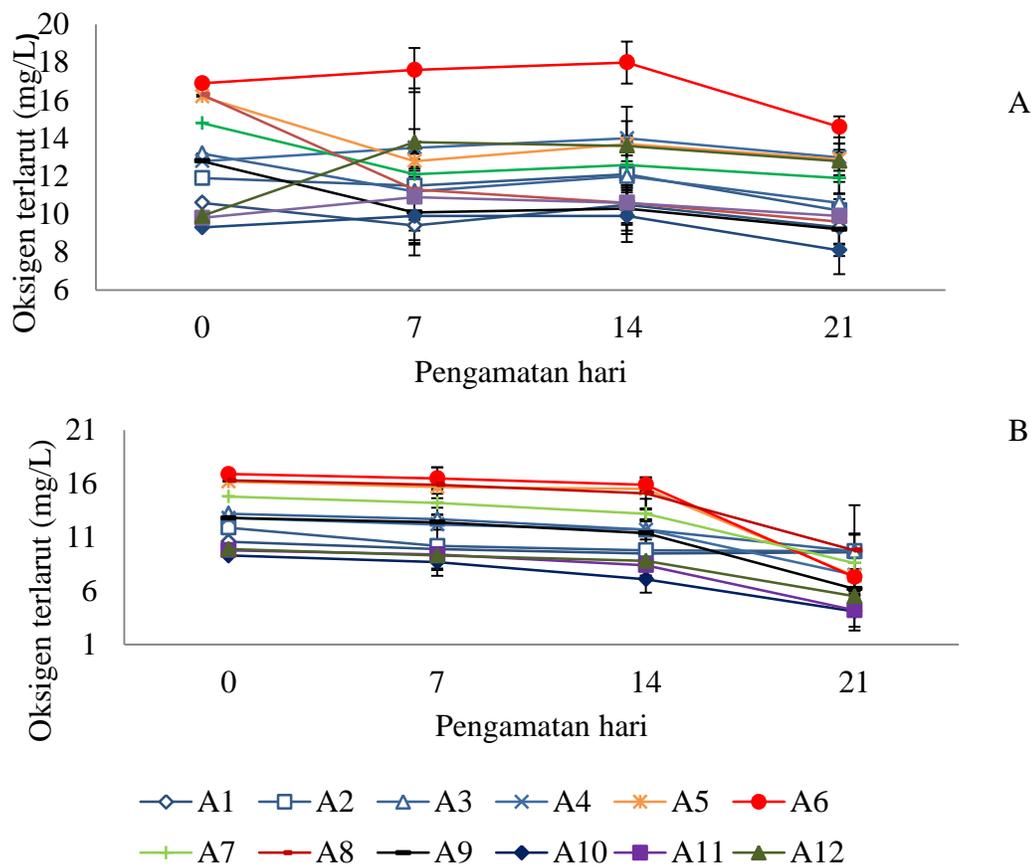


Gambar 4.4 Grafik perlakuan suhu (A) Goyang dan (B) Diam.

Hasil dari penelitian suhu pada pengaplikasian ekoenzim terhadap minyak mentah memiliki pengaruh yang tidak signifikan pada uji *One Way Anova* ( $p < 0.05$ ). Kultur goyang memiliki nilai signifikan ( $p < 0.898$ ) dan kultur diam memiliki nilai signifikan ( $p < 0.229$ ) (Tabel 4.1). Kultur goyang pada suhu mengalami kenaikan saat pengaplikasian ekoenzim pada hari ke-7, ke-14 dan ke-21 mempunyai nilai rerata suhu 21.3-25°C, sedangkan kultur diam pada suhu mengalami penurunan pada saat

pengaplikasian ekoenzim pada hari ke-7, ke-14 dan ke-21 mempunyai rerata suhu 20.0 - 22.3°C. Rentangan perubahan suhu 20.0 – 25.0°C masih masuk batas aman Menurut Nontji (2002) suhu air laut umumnya memiliki kisaran baku mutu antara 28-31°C di Indonesia (Gambar 4.4).

#### 4.1.3.2 Pengaruh Perlakuan Ekoenzim Terhadap Oksigen Terlarut (DO) Air

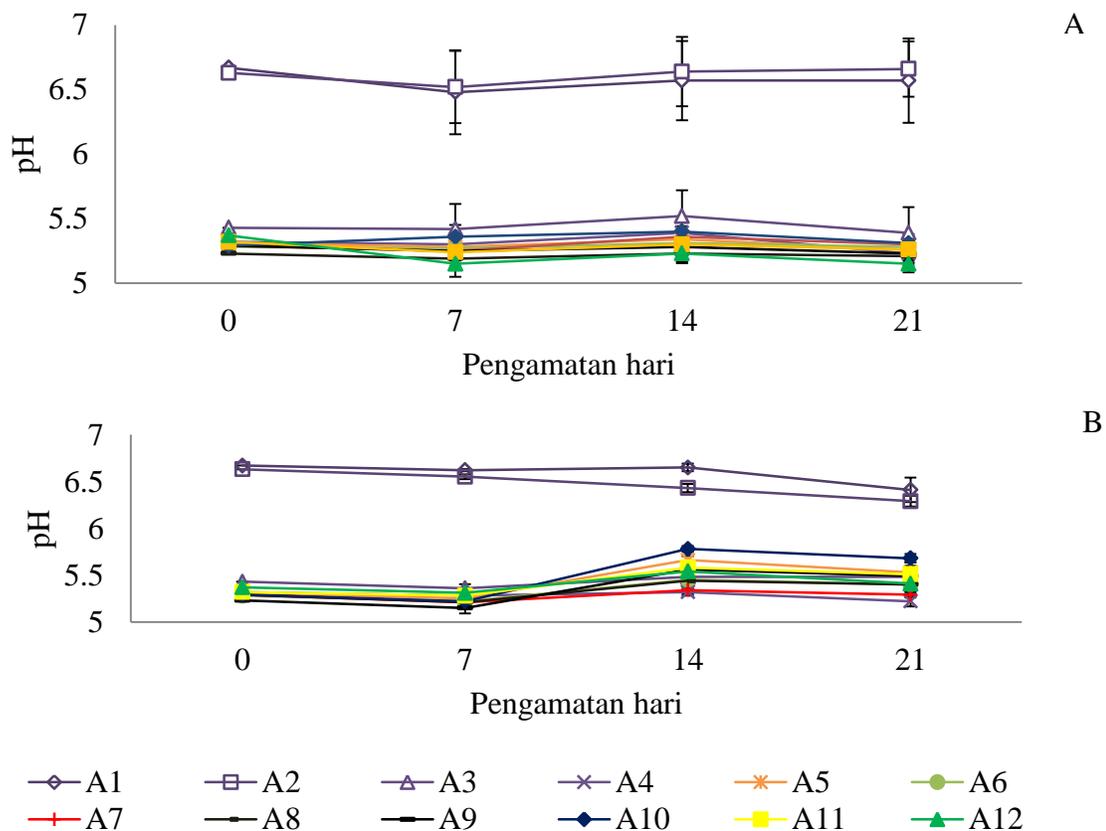


Gambar 4.5 Grafik perlakuan oksigen terlarut (DO) (A) Goyang dan (B) Diam

Hasil dari penelitian oksigen terlarut pada pengaplikasian ekoenzim terhadap minyak mentah memiliki pengaruh yang signifikan pada uji *One Way Anova* ( $\rho < 0.05$ ). Kultur goyang memiliki nilai signifikan ( $\rho < 0.00$ ) dan kultur diam memiliki nilai signifikan ( $\rho < 0.00$ ) (Tabel 4.1). Kultur goyang pada oksigen terlarut mengalami

kenaikan sebelum pengaplikasian ekoenzim pada hari ke-0 akan tetapi pada pengaplikasian ekoenzim mengalami kenaikan pada hari ke-7 dan ke-14 pada hari ke-21 pengaplikasian ekoenzim mengalami penurunan mempunyai nilai rerata oksigen terlarut 8.1- 9.9 mg/l, sedangkan kultur diam pada oksigen terlarut mengalami penurunan pada saat pengaplikasian ekoenzim pada ke-14 dan ke-21 mempunyai rerata oksigen terlarut 4.1 – 9.3 mg/l. Rentangan perubahan oksigen terlarut 4.1 – 9.9 mg/l masih memiliki batas kurang dari batas baku mutu Menurut Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup No 51 Tahun 2004 memiliki nilai standar baku mutu Oksigen terlarut air laut di Indonesia  $>5$  mg/l (Gambar 4.5).

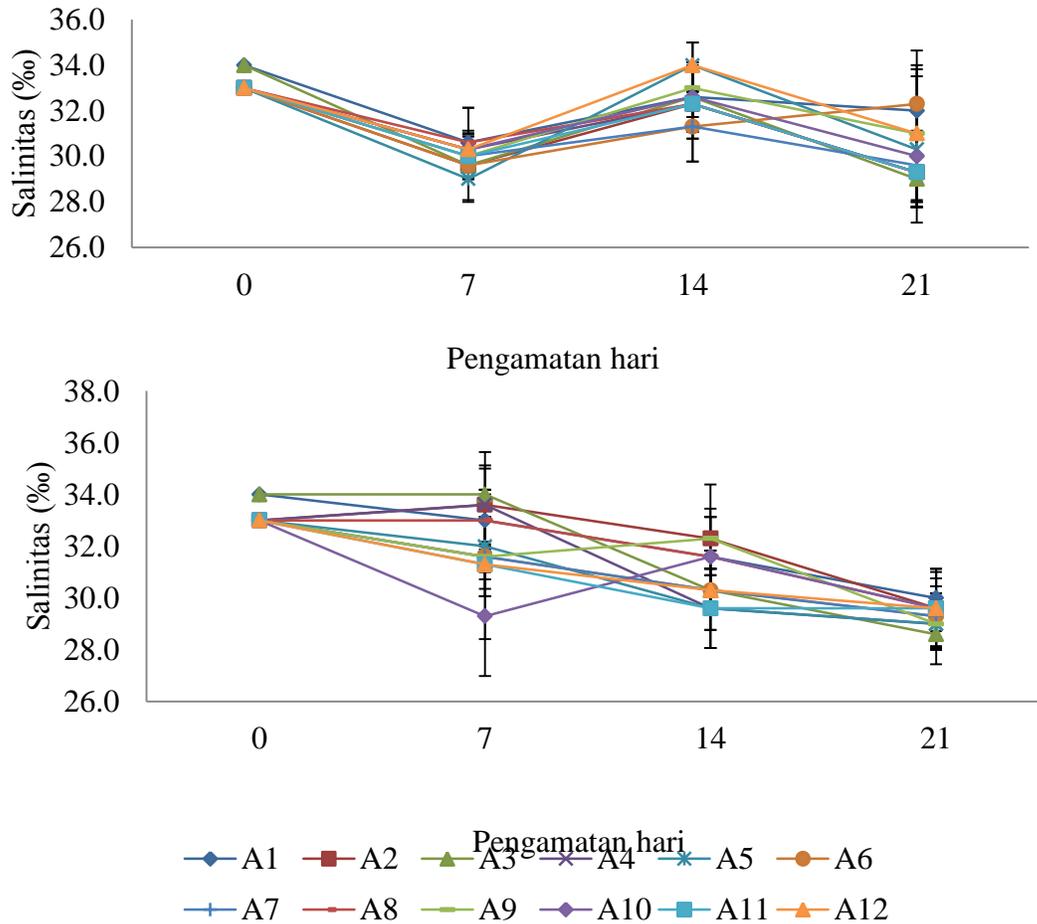
#### 4.1.3.3 Pengaruh Perlakuan Ekoenzim Terhadap pH Air



Gambar 4.6 Grafik perlakuan pH (A) Goyang dan (B) Diam.

Hasil dari penelitian pH pada pengaplikasian ekoenzim terhadap minyak mentah memiliki pengaruh yang signifikan pada uji *One Way Anova* ( $\rho < 0.05$ ). Kultur goyang memiliki nilai signifikan ( $\rho < 0.00$ ) dan kultur diam memiliki nilai signifikan ( $\rho < 0.000$ ) (Tabel 4.1). Kultur goyang pada pH mengalami penurunan sebelum pengaplikasian ekoenzim sesudah pengaplikasian ekoenzim pH mengalami kenaikan pada hari ke-14 dan ke-21 saat pengaplikasian ekoenzim dan mempunyai nilai rerata pH 5.15- 5.23, sedangkan kultur diam pada pH mengalami kenaikan pada saat pengaplikasian ekoenzim pada hari ke-14 dan ke-21 mempunyai nilai rerata pH 5.15- 5.32. Rentangan perubahan pH 5.15-5.32 masih memiliki batas dibawah standrat baku mutu menurut Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup No 51 Tahun 2004 memiliki nilai antara 7-8.5. (Gambar 4.6).

#### 4.1.3.4 Pengaruh Perlakuan Ekoenzim Terhadap Salinitas Air

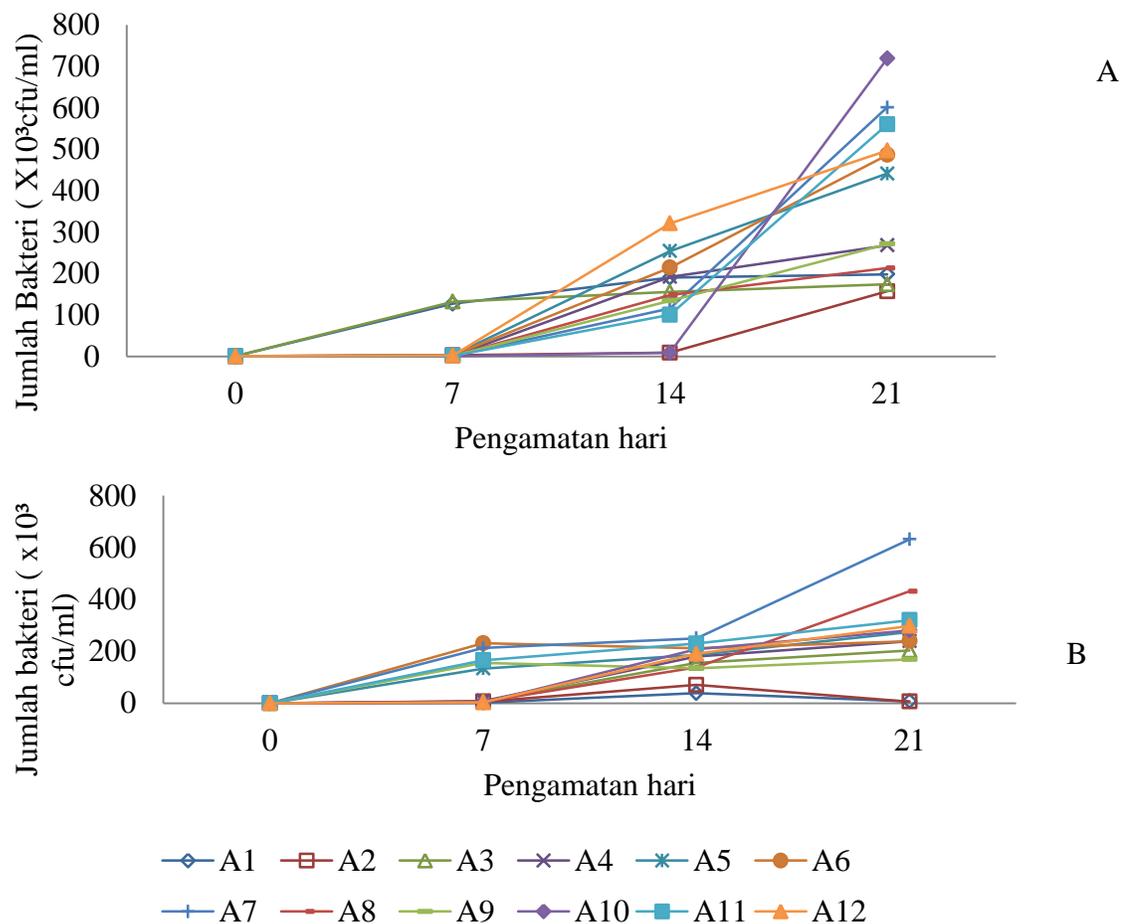


Gambar 4.7 Grafik perlakuan salinitas (A) Goyang dan (B) Diam.

Hasil dari penelitian salinitas pada pengaplikasian ekoenzim terhadap minyak mentah memiliki pengaruh yang signifikan pada uji *One Way Anova* ( $p < 0.05$ ). Kultur goyang memiliki nilai signifikan ( $p < 0.08$ ) dan kultur diam memiliki nilai signifikan ( $p < 0.06$ ) (Tabel 4.1). Kultur goyang pada salinitas mengalami penurunan pada pengaplikasian hari ke-7 akan tetapi pengaplikasian hari ke-14 dan ke-21 memperlihatkan hasil naik dan mempunyai nilai rerata salinitas 29.3- 33.0%, sedangkan kultur diam pada salinitas mengalami penurunan pada saat pengaplikasian ekoenzim pada hari ke-7, ke-14 dan ke-21 mempunyai nilai rerata salinitas 29.3-

33.0‰. Rentangan perubahan salinitas memiliki nilai 29-33‰ masih memiliki batas aman pada standar baku mutu Menurut Menurut Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup No.51 tahun 2004 standrat baku mutu 32-34‰. (Gambar 4.7).

#### 4.1.3.5 Pengaruh Perlakuan Ekoenzim Jumlah Bakteri Dalam Air

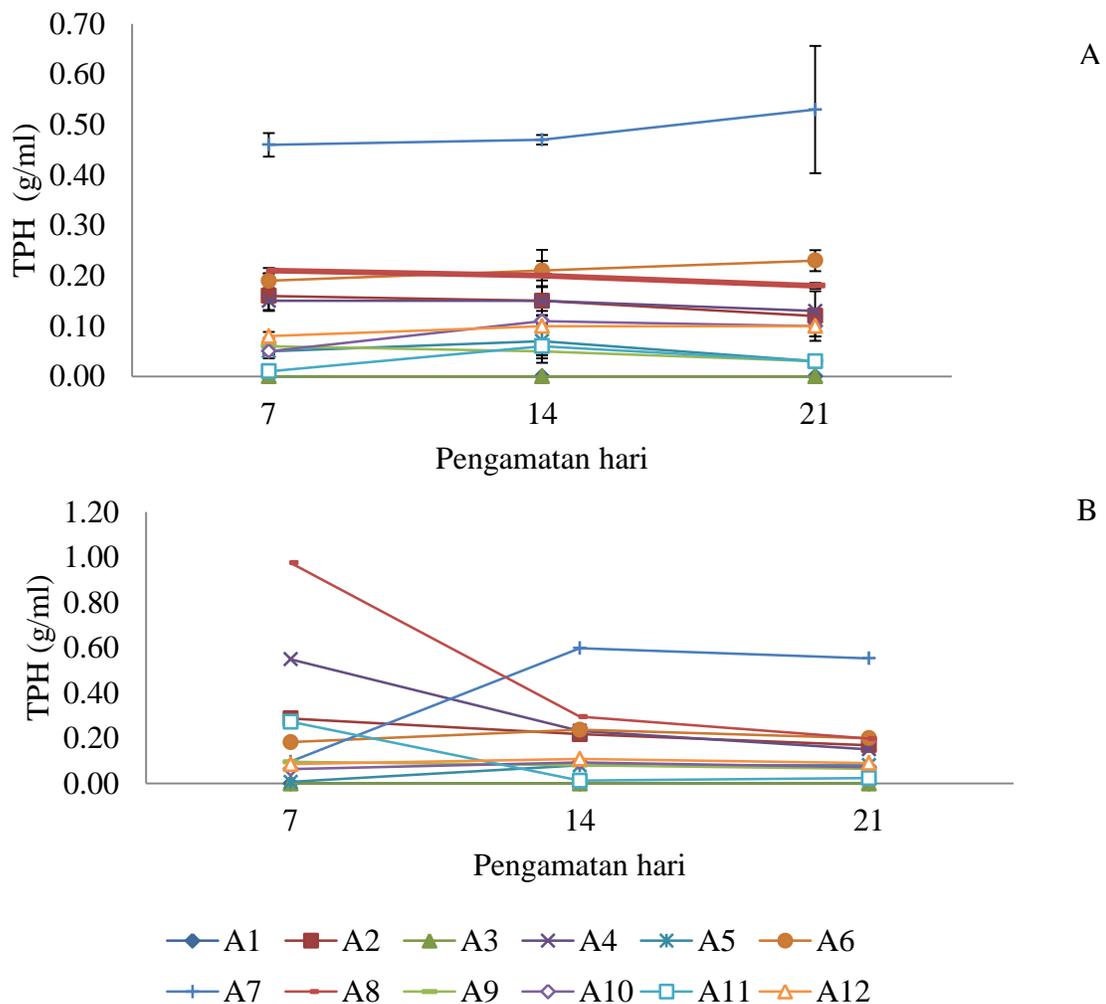


Gambar 4.8 Grafik perlakuan jumlah bakteri (A) Goyang dan (B) Diam.

Hasil dari penelitian jumlah bakteri pada pengaplikasian ekoenzim memiliki pengaruh yang signifikan dan tidak signifikan pada uji *One Way Anova* ( $p < 0.05$ ). Kultur goyang memiliki nilai signifikan ( $p < 0.447$ ) dan kultur diam memiliki nilai signifikan ( $p < 0.000$ ) (Tabel 4.1). Kultur goyang pada jumlah bakteri mengalami kenaikan mengalami kenaikan pengaplikasian ekoenzim pada hari ke-7, ke-14 dan

ke-21 pada perlakuan A10B1 mengalami kenaikan pada hari ke-21, sedangkan pada parameter diam mengalami kenaikan tetapi pada pengaplikasian ekoenzim mengalami penurunan pada hari ke- 14 dan hari ke-21 pada perlakuan A2B2 dan A1B2 (Gambar 4.8).

#### 4.1.3.6 Pengaruh Perlakuan Ekoenzim Terhadap TPH Minyak

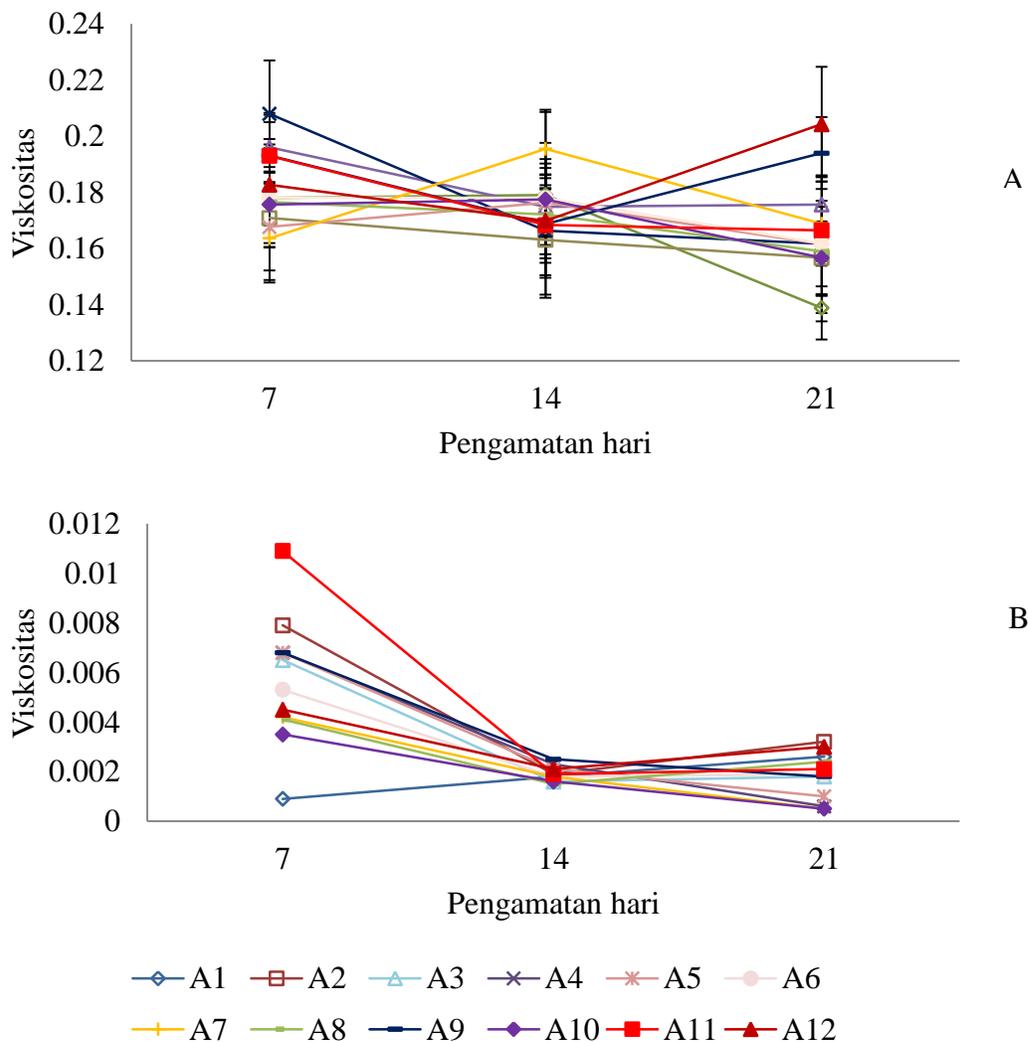


Gambar 4.9 Grafik perlakuan TPH (A) Goyang dan (B) Diam

Hasil dari pengamatan TPH pada pengaplikasian ekoenzim terhadap minyak mentah memiliki pengaruh signifikan pada uji *One Way Anova* ( $p < 0.05$ ). Kultur

goyang memiliki nilai signifikan ( $\rho < 0.000$ ) dan kultur diam memiliki nilai signifikan ( $\rho < 0.000$ ) (Tabel 4.1). Kultur goyang TPH mengalami kenaikan pada pengaplikasian pada hari ke-14 tetapi mengalami penurunan pada hari ke-21 pada perlakuan A12B1 mengalami penurunan, sedangkan pada kultur diam mengalami penurunan saat pengaplikasian ekoenzim pada hari ke-14 dan hari ke-21 akan tetapi pada perlakuan A7B2 mengalami kenaikan dikarenakan pada saat pengambilan suspensi tidak terlalu homogen sehingga mengalami kenaikan sendiri (Gambar 4.9).

#### 4.1.3.7 Pengaruh Perlakuan Ekoenzim Viskositas Terhadap Minyak



Gambar 4.10 Grafik perlakuan viskositas (A) Goyang dan (B) Diam.

Hasil dari pengamatan viskositas pada pengaplikasian ekoenzim terhadap minyak mentah memiliki pengaruh tidak signifikan pada uji *One Way* Anova ( $p < 0.05$ ). Kultur goyang memiliki nilai signifikan ( $p < 0.212$ ) dan kultur diam memiliki nilai signifikan ( $p < 0.284$ ) (Tabel 4.1). Kultur goyang viskositas mengalami penurunan pada saat pengaplikasian ekoenzim mengalami kenaikan pada hari ke-7, ke-14 dan ke-21, sedangkan pada parameter viskositas kultur diam mengalami kenaikan tetapi mengalami penurunan pada saat pengaplikasian ekoenzim pada hari ke-7, ke-14 dan ke-21 penurunan (Gambar 4.10).

## **4.2 Pembahasan**

### **4.2.1 Efektivitas Kosentrasi Ekoenzim Remediasi Kontaminasi Minyak Mentah**

Kosentrasi efektivitas ekoenzim remediasi kontaminasi minyak mentah pengolahan data dilakukan dengan uji anova serta dilakukan dengan uji lanjut Duncan. Hasil dari pengolahan uji *One Way* Anova mendapatkan hasil dari dua kultur goyang dan kultur diam memiliki perbedaan nilai parameter yang signifikan. Kultur goyang terdapat pada parameter oksigen terlarut menganalisis dan mengetahui pengaruh parameter yang diberikan selama penelitian serta menjawab hipotesis.

Hasil uji Anova parameter DO yang diamati pada penelitian ini memiliki rata-rata berbeda nyata. Hasil DO selama pengamatan 21 hari menunjukkan berbeda nyata signifikan ( $\alpha < 0.05$ ) terhadap semua perlakuan. Kemudian dilakukan uji lanjut dengan uji Duncan didapatkan hasil perlakuan A6B1 dan A7B1 memiliki pengaruh yang paling besar terhadap oksigen terlarut dalam air.

Hasil uji Anova parameter pH yang diamati pada penelitian ini menunjukkan rata-rata berbeda nyata. Hasil pH selama pengamatan 21 hari menunjukkan berbeda nyata signifikan ( $\alpha < 0.05$ ) terhadap semua perlakuan. Kemudian dilakukan uji lanjut dengan uji Duncan mendapatkan hasil perlakuan A3B1 dan A12B1 memiliki pengaruh yang paling besar terhadap pH air.

Hasil uji Anova parameter TPH yang diamati pada penelitian ini memiliki rerata berbeda nyata. Hasil TPH selama pengamatan 21 hari menunjukkan berbeda

nyata signifikan ( $\alpha < 0.05$ ). Kemudian dilakukan uji lanjut dengan uji Duncan mendapatkan hasil perlakuan A7B1 paling mempengaruhi pH.

Kultur diam memiliki empat parameter yang berbeda nyata terdiri dari oksigen terlarut, pH, TPH dan jumlah bakteri. Hasil uji Anova parameter DO yang diamati pada penelitian ini memiliki rerata berbeda nyata selama pengamatan 21 menunjukkan signifikan ( $\alpha < 0.05$ ) terhadap semua perlakuan. Kemudian dilakukan dengan uji lanjut Duncan mendapatkan hasil perlakuan A8B2 paling berpengaruh terhadap DO.

Hasil uji Anova parameter pH yang diamati pada penelitian ini menunjukkan rata-rata berbeda nyata selama pengamatan 21 hari menunjukkan signifikansi ( $\alpha < 0.05$ ) terhadap semua perlakuan. Kemudian dilakukan dengan uji lanjut Duncan mendapatkan hasil perlakuan A1B2 dan A2B2.

Hasil uji Anova parameter TPH yang diberikan pada penelitian ini menunjukkan pengaruh rata-rata berbeda nyata selama pengamatan 21 hari menunjukkan signifikan ( $\alpha < 0.05$ ). Kemudian dilakukan dengan uji lanjut Duncan mendapatkan hasil perlakuan A8B2.

Hasil uji Anova parameter jumlah bakteri yang diberikan pada penelitian ini memiliki pengaruh rata-rata berbeda nyata selama pengamatan 21 hari menunjukkan signifikan ( $\alpha < 0.05$ ). Kemudian dilakukan dengan uji Duncan mendapatkan hasil perlakuan A7B2.

Dari hasil kultur goyang perlakuan A7B1 yang terdiri dari minyak mentah 300ppm dan ekoenzim 15% memberikan pengaruh yang paling besar pada parameter air. Pada kultur diam terdapat perlakuan A8B2 dengan kadar minyak mentah 300 ppm serta ekoenzim 20% yang lebih berdampak pada parameter air.

Berdasarkan analisis statistik, ekoenzim dinyatakan berpengaruh mengurangi kontaminasi minyak mentah pada air laut dengan perbandingan aplikasi kosentrasi ekoenzim terhadap minyak paling efektif pada kultur goyang sebesar 15% kosentrasi ekoenzim dan 300ppm kosentrasi minyak mentah sedangkan pada kultur diam sebesar 20% kosentrasi ekoenzim dan 300ppm kosentrasi minyak mentah. Kultur

diam memerlukan konsentrasi lebih tinggi dari pada kultur goyang dalam menguraikan minyak dengan kadar yang sama karena kultur diam tidak melewati proses shaker sehingga ekoenzim tidak tersebar merata dipermukaan air dan tidak dapat kontak dengan lapisan minyak secara langsung sehingga memerlukan konsentrasi lebih. Pada kondisi kultur goyang suspensi dihomogenkan menggunakan shaker sehingga ekoenzim tersebar merata dipermukaan air dan dapat kontak dengan lapisan minyak secara langsung. Kondisi ini memungkinkan enzim langsung kontak dengan minyak sebagai substrat sehingga proses pemecahan substrat minyak hidrokarbon kompleks menjadi produk yang lebih sederhana lebih efektif.

#### **4.2.2 Jenis Enzim pada Ekoenzim Kulit Nanas**

Aktivitas enzim yang ada dalam ekoenzim kulit nanas terdapat tiga enzim lipase, enzim alkana hidroksilase dan enzim dioksigenase. Aktivitas enzim lipase memiliki kurva standar dengan asam oleat adalah salah satu asam lemak yang merupakan produk industri oleokimia dasar terpenting dengan jumlah produk tertinggi. Bahan ini dapat disintesis menjadi berbagai produk turunan karena sebenarnya hampir semua produk oleokimia dasar dan hilir dapat diproduksi dari asam lemak. Asam oleat termasuk asam lemak tak jenuh tunggal yang banyak terkandung dalam minyak nabati berasal dari adding, keju, kacang-kacangan, alpukat dan minyak nabati (Maisaroh dan Indra, 2017).

Kandungan terbesar asam oleat adalah pada minyak zaitun (55-80%), pada kelapa sawit mencapai 30-45%, asam lemak ini juga terkandung dalam minyak bunga matahari, minyak raps, minyak biji anggur. Senyawa asam oleat dengan rumus molekul ( $C_{18}H_{34}O_2$ ) berupa senyawa padatan berwarna orange dengan titik leleh 26-28°C. Asam oleat adalah asam lemak tak jenuh yang mempunyai rumus molekul  $C_{18}H_{34}O_2$  (asam oktadek-9-etanol). Kandungan C 76,54%; H 12,13%; dan O 11,13% (Merk Index, 1989).

Enzim lipase merupakan pemecah lemak gliserol ester hidrolase atau triasilgliserol asilhidrolase termasuk dalam kelas enzim yang mengkatalisis reaksi

hidrolisis. Enzim lipase memiliki aktivitas yang dapat menghidrolisis berbagai lemak dan minyak dalam satuan waktu.. Enzim lipase mempunyai aktivitas pada kondisi optimum yang diperoleh dari pengukuran aktivitas enzimatik pada modifikasi suhu serta pH (Fatimah, 2021).

Hasil pengujian konsentrasi enzim lipase pada ekoenzim dari kulit nanas pada masa inkubasi suhu 50°C dengan konsentrasi 99.696 g/ml. Hal tersebut disebabkan laju difusi dipermukaan semakin lambat, sehingga laju adsorpsi juga semakin rendah.

NADH adalah sebutan bagi molekul  $\text{NAD}^+$  yang tereduksi dengan penambahan 1 atom hydrogen. NADH merupakan bentuk koenzim aktif dari vitamin B3. NADH adalah koenzim yang memfasilitasi reaksi reduksi substrat yang terkait dengan glikolisis, fosforilasi oksidatif, dan fermentasi (Vora, 2022).

Aktivitas enzim alkana hidroksilase berasal dari bakteri *Bacillus subtilis* keberadaan enzim ini dapat mendegradasi minyak Alkana hidroksilase merupakan enzim kunci dalam degradasi alkana sedangkan naftalen dioksigenase dan toluene dioksigenase merupakan enzim kunci dalam degradasi hidrokarbon aromatik (Jauhari et al., 2014). Asam lemak dipecah,  $\text{CO}_2$  dilepaskan dan membentuk asam lemak baru yang merupakan 2 unit karbon yang lebih pendek dari molekul induk, proses ini dikenal sebagai beta oksidasi (Efendi, 2017)

Hasil dari penelitian jenis aktivitas enzim alkana hidroksilase dari ekoenzim kulit nanas dengan variasi inkubasi waktu 15 menit NADH dan tanpa NADH memiliki nilai aktivitas enzim NADH 0.966 U/ml dan tanpa NADH 0.085 U/ml. Gambar 4.2 menampilkan aktivitas enzim alkana hidroksilase NADH memiliki nilai tertinggi 0.966 U/ml.

Dari Hasil dari penelitian jenis aktivitas enzim dioksigenase dari ekoenzim kulit nanas dengan variasi inkubasi waktu 15 menit NADH dan tanpa NADH memiliki nilai aktivitas enzim NADH 0.087 U/ml dan tanpa NADH 0.015 U/ml. Gambar 4.2 menampilkan aktivitas enzim dioksigenase tanpa NADH memiliki nilai 0.087 U/ml.

Konsorsium bakteri heterotrofik mengeluarkan enzim ekstraselulernya untuk memecah senyawa organik kompleks menjadi senyawa organik yang lebih sederhana. Senyawa sederhana yang terbentuk akan dapat memasuki sel dengan cara transport aktif, difusi, atau osmosis sehingga dapat digunakan sebagai sumber nutrisi bagi berlangsungnya metabolisme bakteri. Dengan mekanisme tersebut jumlah sel bakteri akan meningkat. Seiring dengan meningkatnya jumlah sel bakteri, enzim yang dikeluarkan pun semakin banyak. Jika jumlah enzim yang dikeluarkan seimbang dengan volume polutan, maka reduksi total dapat terjadi dan proses degradasi limbah berlangsung dengan sempurna (Wignyanto *et al.*, 2009; Abatenh *et al.*, 2017)

Enzim ini dibutuhkan oleh mikroorganisme dalam biodegradasi hidrokarbon untuk mengkatalis reaksi oksidasi hidrokarbon (Geetha *et al.*, 2013). Kemampuan bakteri dalam mendegradasi hidrokarbon dipengaruhi oleh adanya enzim-enzim katabolic yang mampu memecah senyawa hidrokarbon menjadi senyawa metabolit yang mampu rusak ke dalam siklus asam sitrat.

Enzim katabolik yang paling berperan penting dalam proses katabolisme hidrokarbon yang masuk ke dalam sel bakteri adalah enzim yang mengkatalis reaksi oksidasi hidrokarbon tahap pertama. Tahap pertama katabolisme alkane dan aromatic oleh bakteri masing-masing di inisiasi oleh enzim alkane hidroksilase dan dioksigenase. Enzim monooksigenase merupakan enzim kunci dalam degradasi alkane sedangkan enzim dioksigenase merupakan enzim kunci dalam degradasi hidrokarbon aromatic (Jauhari *et al.*, 2014).

Jalur degradasi hidrokarbon alifatik yaitu melalui proses oksidasi gugus metil terminal yang melibatkan pembentukan alkohol oleh enzim alkane hidroksilase (Wentzel *et al.*, 2007).

#### **4.2.3 Proses Remediasi Minyak Mentah oleh Ekoenzim**

Perlakuan pemberian ekoenzim pada air laut mempengaruhi beberapa parameter suhu, oksigen terlarut, pH, salinitas, jumlah bakteri, TPH dan viskositas. Parameter suhu perairan merupakan salah satu faktor yang amat penting bagi

kehidupan organisme di perairan. Pengamatan parameter suhu kultur goyang dan kultur diam memiliki rentangan 21.3-25°C dan 20-22.3°C batas baku Menurut Nontji (2002) suhu air laut umumnya berkisaran antara 28-31°C di Indonesia. Suhu dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain intensitas sinar matahari, letak geografis, musim, kondisi awan, penguapan, dan hembusan angin (Patty, 2013). Perubahan suhu dapat berpengaruh terhadap proses fisik, kimia dan biologi di perairan tersebut (Kusumaningtyas *et al.*,2014).

Hela dan Laevastu (1981) dalam Limbong (2008) juga menerangkan suhu permukaan laut dipengaruhi oleh panas matahari, arus permukaan, keadaan awan, upwelling, divergensi dan konvergensi terutama pada daerah muara dan sepanjang 6 garis pantai. Perbedaan penerimaan radiasi matahari setiap wilayah menyebabkan perbedaan suhu, terkait dengan perbedaan letak geografis lintang. Selain panas matahari, faktor lain yang mempengaruhi suhu permukaan laut adalah arus permukaan, keadaan awan, *upwelling*, divergensi dan konvergensi terutama sekitar estuaria sepanjang garis pantai.

Nontji (2005) dalam bukunya menyebutkan, selain beberapa oleh faktor di atas suhu permukaan laut juga dipengaruhi oleh kondisi meteorologi seperti penguapan, curah hujan, suhu udara, kelembaban udara dan kecepatan angin oleh karenanya suhu permukaan biasanya mengikuti pola musiman. Seperti contoh pada saat musim pancaroba, angin biasanya lemah dan permukaan laut akan tenang sehingga proses pemanasan di permukaan terjadi sangat kuat. Akibatnya pada musim pancaroba suhu lapisan permukaan mencapai maksimum.

Metode remediasi yang digunakan dalam penelitian dengan menggunakan metode biologi dikenal sebagai proses bioremediasi. Bioremediasi diterapkan untuk menghilangkan kontaminasi lingkungan melalui proses biologis oleh tumbuhan, hewan dan mikroorganisme (Song *et al.*,2017). Mekanisme remediasi ada tiga yaitu : bioaugmentasi, biostimulan dan bioremediasi intriksi.

Kebutuhan organisme terhadap oksigen terlarut relative bervariasi tergantung pada jenis, stadium dan aktivitasnya (Gemilang *et al.*,2017). Pengamatan

parameter oksigen terlarut (DO) kultur goyang dan kultur diam memiliki rentang 8.1-9.9 mg/l dan 4.1 – 9.3 mg/l, nilai DO yang diperoleh menandakan perairan dalam kondisi sangat baik dan masih memenuhi standar baku mutu air laut dalam Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup No.51 tahun 2004 untuk kehidupan biota laut dengan nilai DO >5mg/l, sehingga konsentrasi pengamatan DO masih tergolong sesuai untuk biota laut. Penambahan ekoenzim dalam pengukuran oksigen terlarut memiliki pengaruh penurunan nilai oksigen terlarut di bawah batas aman oksigen terlarut.

Faktor yang mempengaruhi kandungan oksigen terlarut di laut antara lain suhu, salinitas, aktivitas biologi dan arus serta proses pencampuran yang dapat mengubah pengaruh- pengaruh dari kegiatan biologi lewat gerakan masa air dan proses difusi (Tahir, 2016).

Menurut Subarijanti (2005) dalam Kadim *et al.*, 2017, memiliki kandungan oksigen dalam air yang ideal adalah antara 3-7 mg/l. Menurut Salmin (2005) bahwa sumber utama oksigen dalam suatu perairan berasal hasil fotosintesis organisme yang hidup dalam perairan tersebut, selain dari proses difusi dari udara bebas. Kandungan DO pada suatu perairan sangat berhubungan dengan tingkat pencemaran, jenis limbah dan banyaknya bahan organik di suatu perairan.

Variasi nilai pH sangat mempengaruhi biota di suatu perairan. Selain itu, tingginya nilai pH sangat menentukan dominasi fitoplankton yang mempengaruhi tingkat produktivitas primer suatu perairan dimana keberadaan fitoplankton didukung oleh ketersediannya nutrient di perairan laut (Megawati *et al.*, 2014).

Parameter pH dari dua kultur goyang dan kultur diam memiliki rentangan 5.15- 5.23 dan 5.15 - 5.32 relatif jauh dari baku mutu standar Menurut Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup No.51 tahun 2004, pH kisaran ideal 7-8.5. Ekoenzim memiliki pH sebesar 3.5 (Sembiring *et al.*, 2022) pada parameter pH di bawah baku standrat mutu dikarenakan terjadi penambahan ekoenzim yang mengakibatkan nilai pH tersebut di bawah baku 7-8.5. Faktor yang mempengaruhi pH di perairan tergantung beberapa faktor yaitu, kondisi gas-gas dalam air seperti

CO<sub>2</sub>, konsentrasi garam-garam karbonat dan bikarbonat, proses dekomposisi bahan organik di dasar perairan (Barus, 2004).

Kondisi perairan yang sangat basa maupun sangat asam akan membahayakan kelangsungan hidup organisme karena akan mengganggu proses metabolisme dan respirasi. Rendahnya pH hasil pengukuran dapat saja terjadi karena pH di suatu perairan dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain aktivitas fotosintesa biota laut, suhu, salinitas perairan dan terdapat penambahan ekoenzim dalam perlakuan kultur goyang dan kultur diam..

Salinitas adalah konsentrasi seluruh larutan garam yang diperoleh dalam air laut, dimana salinitas air berpengaruh terhadap tekanan osmotik air, semakin tinggi salinitas maka akan semakin besar pula tekanan osmotiknya (Hamuna.*et al.*, 2018,). Hasil dari pengukuran salinitas kultur goyang dan kultur diam memiliki rentang 29-33‰ dan 29.3- 33‰ nilai salinitas tersebut tidak berbeda jauh dengan nilai salinitas perairan Indonesia, dimana secara umum permukaan perairan Indonesia rata-rata berkisaran anatar 32-34‰ (Dahuri *et al.*,1996). Faktor yang mempengaruhi salinitas air laut yaitu penguapan, volume air, arus laut dan juga curah hujan.

Pada jumlah bakteri perlakuan kultur goyang dan kultur diam memiliki perbedaan sangat jauh untuk kultur goyang pada pengamatan awal mengalami penurunan sebelum pengaplikasian ekoenzim setelah pengaplikasian ekoenzim mengalami kenaikan dan dilakukan dengan alat shaker pada lampiran gambar pada pengamatan tersebut menghasilkan kenaikan setelah pengaplikasian pada hari ke-7, ke-14 dan ke-21, sedangkan pada kultur diam sebelum pengaplikasian ekoenzim mengalami penurunan dan pada saat pengaplikasi ekoenzim mengalami penurunan pada hari ke-7, ke-14 dan ke-21.

Hasil ini menunjukkan bahwasanya penambahan ekoenzim yang telah di fermentasi selama 3 bulan mengandung berbagai bakteri yang ada pada ekoenzim pada jumlah bakteri pada kultur goyang lebih banyak dikarenakan variasi tersebut di aduk dengan alat agar mencampur pengaplikasian ekoenzim dengan kontaminasi minyak yang dibuat sehingga jumlah bakteri menghasilkan banyak dan mengalami

kenaikan pada kultur goyang untuk kultur diam tidak dilakukan pengadukan maka hal ini tidak mendapatkan hasil jumlah bakteri yang banyak mengakibatkan penurunan saat pengaplikasian hal tersebut.

Pertumbuhan bakteri akan tergantung pada banyak faktor, terutama banyaknya zat makanan. Zat makanan tersebut meliputi sumber karbon (karbohidrat dan lemak), sumber nitrogen (protein atau amoniak), ion –ion anorganik tertentu vitamin dan air. Bakteri memperoleh sumber karbon dengan cara metabolisme karbohidrat dan protein yang sederhana. Selain, itu bakteri juga membutuhkan sumber energi. Sumber energi tersebut berasal dari bahan organik. Selain itu, bakteri juga membutuhkan sumber energi. Sumber energi tersebut berasal dari bahan organik yaitu dengan merombaknya dan menggunakan apa yang diperlukannya. Semua sumber makanan yang dibutuhkan oleh bakteri dalam pertumbuhan terdapat pada kandungan ekoenzim. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa ekoenzim berfungsi sebagai biostimulan pertumbuhan bakteri dalam mendegradasi minyak mentah.

Pengamatan parameter TPH pada kultur goyang dan kultur diam perbedaan untuk kultur goyang awalnya sebelum pengaplikasian mengalami stabil setelah pengaplikasian mengalami penurunan dikarenakan adanya kaitan kandungan ekoenzim pada enzim alkane hidroksilase dan dioksigenasi yang bisa mendegradasi minyak, sedangkan pada variasi kultur diam sebelum pengaplikasian mengalami kenaikan tapi pada saat pengaplikasian mengalami penurunan.

Teherani, et al. (2013) menjelaskan bahwa hidrokarbon minyak bumi masuk ke dalam perairan dengan 2 cara yakni secara alami seperti rembesan minyak dari dasar laut dan dari erosi di daratan, yang ke dua ialah dari aktifitas manusia. Dalam tulisanya materi hidrokarbon minyak bumi masuk ke dalam perairan melalui sungai dan limbah rumah tangga lebih besar dibandingkan dengan kawasan pengilangan minyak.

Menurut Hutabarat (1985) selain sumber pencemar yang dapat mempengaruhi konsentrasi hidrokarbon minyak bumi di perairan, jarak sumber

pencemar juga dapat mempengaruhi konsentrasi hidrokarbon minyak bumi yang masuk kedalam perairan laut.

Viskositas merupakan suatu kekentalan pada larutan. Viskositas juga dapat diartikan sebagai daya aliran molekul suatu larutan. Viskositas diuji untuk mengetahui tingkat kekentalan minyak. Viskositas air laut dipengaruhi oleh suhu iklim dan salinitas. Suhu yang semakin tinggi, maka semakin rendah viskositasnya, sedangkan iklim meningkatkan menyebabkan viskositas air laut meningkatkan, salinitas tinggi kekentalan air laut tinggi.

Pengamatan Viskositas dua kultur goyang dan diam mengalami persamaan pada variasi shaker sebelum pengaplikasian ekoenzim mengalami penurunan setelah pengaplikasian mengalami kenaikan, sedangkan pada kultur diam sama seperti kultur goyang. Viskositas juga berbanding terbalik dengan suhu, semakin bertambahnya suhu maka viskositas akan semakin rendah (Wulandari *et al.*,2013) mengatakan bahwa hal ini dikarenakan adanya gerakan partikel-partikel fluida yang semakin cepat. apabila suhu tingkatan maka viskositasnya akan menurun. Suhu yang tinggi akan memutuskan ikatan antar molekul larutan lalu membentuk unit-unit yang lebih kecil, sehingga gaya geser yang dibutuhkan untuk menimbulkan laju geser akan menjadi lebih kecil, sehingga fluida lebih mudah mengalir.

## **BAB V**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Simpulan**

1. Efektivitas konsentrasi ekoenzim remediasi kontaminasi minyak mentah terdapat hasil kultur goyang memiliki 3 parameter signifikan hasil dari uji *One Way Anova* yaitu: oksigen terlarut pada perlakuan A6B1 dan A7B1, pH pada perlakuan A3B1 dan A12B1 dan TPH pada perlakuan A7B1, sedangkan variasi diam memiliki 4 parameter signifikan hasil dari uji *One Way Anova* : oksigen terlarut terdapat pada perlakuan A8B2, pH terdapat pada perlakuan A1B2 dan A2B2, TPH terdapat pada perlakuan A8B2 dan pada jumlah bakteri terdapat pada perlakuan A7B2. Dari hasil tersebut menunjukkan dari kultur goyang terdapat pada perlakuan A7B1 dan variasi diam terdapat pada perlakuan A8B2 memiliki nilai efektifitas dalam biostimulasi ekoenzim yang baik. Konsentrasi minyak mentah 300 ppm konsentrasi ekoenzim 15% dan konsentrasi ekoenzim 20%.
2. Jenis enzim pada ekoenzim kulit nanas terdapat 3 macam enzim yaitu : enzim lipase, enzim alkane hidroksilase dan enzim dioksigenase. Untuk nilai aktivitas enzim lipase memiliki nilai 0.4132 U/mL, nilai aktivitas enzim alkane hidroksilase memiliki nilai NADH 0.966 U/ml dan U/ml dan sedangkan pada enzim dioksigenase memiliki nilai tanpa NADH 0.087 U/ml.
3. Proses pemberian ekoenzim untuk remediasi minyak pada air laut menyebabkan perubahan signifikan pada oksigen terlarut, pH, TPH dan jumlah bakteri dan tidak menimbulkan efek signifikan pada suhu, salinitas dan viskositas.

### **5.3 Saran**

Dengan melihat hasil simpulan diatas, maka ada beberapa saran dari peneliti yakni sebagai berikut :

#### **5.1.1 Bagi Akademik**

Saran bagi akademik sebaiknya lebih menggali lagi mengenai ilmu pengetahuan khususnya aktivitas enzim lipase terkandung dalam ekoenzim sebagai pendegradasi minyak mentah.

#### **5.1.2 Bagi Peneliti**

Saran bagi peneliti perlu dilakukan menambah jenis enzim sebagai pendegradasi minyak mentah serta dampak kosentrasi ekoenzim yang baik untuk pengaplikasian di skala laut.

#### **5.1.3 Bagi Peneliti Selanjutnya**

Perlu dilakukan pembandingan dengan penelitian terhadap jenis enzim sebagai pendegradasi minyak mentah.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amini A, Setiasih S, Handayani S, Hudiyono S, Saepudin E. 2018. Potential Antibacterial Activity of Partial Purified Bromelain from Pineapple Core Using Acetone and Ammonium Sulfate Againsts Dental Caries-Causing Bacteria. AIP Conference Proceedings 2023. Universitas Indonesia.
- Andriansyah, A. 2021. Kasus Tumpahan Minyak di Teluk Balikpapan ,Koalisi Masyarakat Ajukan Kasasi. URL:<https://www.voaindonesia.com/a/kasus-tumpahan-minyakditeluk-balikpapan-koalisi-masyarakat-ajukankasasi/6003348.html> Diakses 21 Maret 2022.
- Arumingtyas, L dan D.Syahni. 2019. Tragedi Tumpahan Minyak Pertamina di Karawang, Horor bagi Manusia dan Lingkungan. URL: <https://www.mongabay.co.id/2019/07/30/tragedi-tumpahan-minyak-pertamina-di-karawang-horor-bagi-manusia-dan-lingkungan/> Diakses 22 Maret 2022.
- Arvirianty,A. 2019. Montara sampai Karawang, 3 Kasus Tumpahan Minyak di Laut RI. URL : <https://www.cnbcindonesia.com/news/20190726143145-4-87852/montara-sampai-karawang-3-kasus-tumpahan-minyak-di-laut-ri>. Diakses 21 Maret 2022.
- Baltrenas P., Baltrenaile E., Sereviciene V., Pereira P., 2011, Atmospheric BTEX Concentrations in the Vicinity of the Crude Oil Refinery of the Baltic Region, *Environmental Monitoring and Assessment, Journal*, **182**.
- Barus, TA. 2004. Faktor-faktor lingkungan abiotik dan keanekaragaman plankton sebagai indikator kualitas perairan danau toba (Faktor-faktor lingkungan abiotik dan keanekaragaman plankton sebagai indikator kualitas air di danau toba, Sumatera Utara, Indonesia). *Jurnal Manusia dan Lingkungan* , **11** (2), 64-72.
- Bulai, I. S., H. Adamu, Y. A. Umar dan A. Sabo. 2021. Optimatization of Fruit Garbage Enzyme Requirements for Biocatalytic Remediation of Used Motor Oil-Contaminated Soil. *J. Korean Soc. Environ. Eng.* **43**(4), 24-256.
- Burton, G.S., 2013, Oxidizing Enzymes as Biocatalysts, *Journal of Biotechnology*, **21**(12), 543-549.

- Dabesor AP, Asowata AM, Umoiette P. 2017. Phytochemical Compositions and Antimicrobial Activities of Ananas comosus Peel (M.) and Cocos nucifera Kernel (L.) on Selected Food Borne Pathogens. *AJPB* .2(2):73-76.
- Dahuri, R., Rais, J., Ginting, S. P., & Sitepu, M. J. 1996. Pengelolaan sumberdaya pesisir dan lautan secara terpadu. *Jakarta: PT. Pramadya Paramita*.
- Darmayanti Y., dan Afianti NF . 2017. Penerapan dan Tingkat Efektivitas Teknik Bioremediasi untuk Perairan Pantai Tercemar Minyak. *Oseana*. 17(4), 55-69.
- Dash, HR, Mangwani, N., Chakraborty, J., Kumari, S., & Das, S. 2013. Bakteri laut: kandidat potensial untuk bioremediasi yang ditingkatkan. *Mikrobiologi terapan dan bioteknologi* , 97 (2), 561-571.
- Data, Pusat. 2016. Sistem Informasi Pertanian Kementerian Pertanian. Outlook Komoditas Pertanian Tanaman Pangan Ubi Kayu.
- Efendi, M. R. S. 2017. Deteksi Gen serta Uji Aktivitas Enzim Katabolik pada *Bacillus subtilis* 3KP terhadap Substrat Hidrokarbon (Doctoral dissertation, UNIVERSITAS AIRLANGGA).
- EFENDI, MRS. 2017. Deteksi Gen serta Uji Aktivitas Enzim Katabolik pada *Bacillus subtilis* 3KP terhadap Substrat Hidrokarbon (Disertasi Doktor, UNIVERSITAS AIRLANGGA).
- Fadzry, Nurul, Habibi Hidayat dan Endah Eniati. 2020. Analisis COD, BOD dan DO pada Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) Balai Pengelolaan Infrastruktur Air Limbah dan Air Minum Perkotaan Dinas PUP-ESDM Yogyakarta. *IJCR Indonesia Journal of Chemical Research*. Vol 5 No,2.
- Fanny, N. D., Linda, T. M., & Martina, A. 2018. Kemampuan isolat tunggal dan konsorsium aktinomisetes lokal riau dalam mendegradasi hidrokarbon minyak bumi. *BIO-SITE/ Biologi dan Sains Terapan*, 4(2), 53-60.
- Fatimah, E. 2021. REVIEW ARTIKEL: KARAKTERISTIK DAN PERANAN ENZIM LIPASE PADA PRODUKSI DIACYGLYCEROL (DAG) DARI VIRGIN COCONUT OIL (VCO). *Jurnal Kimia Unesa* , 10 (3), 246-256.

- Fidiastuti, Hasminar Rachman, Anis Samrotul Lathifah, Mohamad Amin, Yudhi Utomo, Chandra Adi Prabowo. 2019. *Bioremediasi Limbah Industri*. Forind, Malang.
- Gemilang, D. N. 2017. Pengaruh Likuiditas, Leverage, Profitabilitas, Ukuran Perusahaan Dan Capital Intensity Terhadap Agresivitas Pajak Perusahaan. *Skripsi Fakultas Ekonomi Dan Bisnis Islam, Institut Agama Islam Negeri Surakarta*.
- Gozali, I. 2020 Tumpahan Minyak Nyaris Setiap Tahun Terjadi di Pesisir Laut. URL : <https://www.portonews.com/2020/laporan-utama/tumpahan-minyak-nyaris-setiap-tahun-terjadi-di-pesisir-laut/>. Diakses 22 Maret 2022.
- Hamad, A., Hidayah, B. I., Sholekhah, A., & Septhea, A. G. (2017). Potensi kulit nanas sebagai substrat dalam pembuatan nata de pina. *JRST (Jurnal Riset Sains dan Teknologi)*, **1**(1), 09-14.
- Hamuna, B., Tanjung, R. H., & MAury, H. 2018. Kajian kualitas air laut dan indeks pencemaran berdasarkan parameter fisika-kimia di perairan Distrik Depapre, Jayapura.
- Harahap, F., Hasanah, A., Insani, H., Harahap, N. K., Pinem, M. D., Edi, S., & Silaban, R. 2019. *Kultur jaringan nanas*. Media Sahabat Cendekia.
- Hartanti, F.K. 2013. Evaluasi metode pengujian angka lempeng total menggunakan metode petrifilm aerobic count plat terhadap metode uji sni 01.2332.2006 pada produk perikanan di LPPMHP Surabaya. *Jurnal Teknik Industri HEURISTIC*. **13**(2): 89-105
- Haryono, Ihwan dan Henry Noland. 2019. Analisa Pelumas Beka Pada Uji Engine Berbahan Bakar Minyak Mentah (*Crude Oil*). *Seminar Nasional Inovasi dan Aplikasi Teknologi di Industri*. 2085-4218.
- Helle, I., Mäkinen, J., Nevalainen, M., Afenyo, M., & Vanhatalo, J. 2020. Dampak tumpahan minyak pada ekosistem laut Arktik: perspektif penilaian risiko kuantitatif dan probabilistik. *Ilmu & Teknologi Lingkungan*, **54** (4), 2112-2121.
- Hemalatha, M., & Visantini, P. 2020. Potential use of eco-enzyme for the treatment of metal based effluent. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 9-10 April 2019, Perak, Malaysia. 716 (012016). 1-6.

- Hidayat, A. A. N.. 2022. Kasus Tumpahan Minyak Balikpapan, Pertamina Menang Gugatan Rp 1.5 T. URL : [\\_https://bisnis.tempo.co/read/1553138/kasus-tumpahan-minyak-balikpapan-pertamina-menang-gugatan-rp-15-t](https://bisnis.tempo.co/read/1553138/kasus-tumpahan-minyak-balikpapan-pertamina-menang-gugatan-rp-15-t). Diakses 22 Maret 2022.
- Hidayat, Asep dan Chairil Anwar Siregar. 2017. *Telaah Mendalam tentang Bioremediasi: Teori dan Aplikasinya dalam Upaya Konservasi Tanah dan Air*. Edisi 1, PT Penerbit IPB Press, Bogor.
- Hidayat, Eka Rahmat. 2017. Minyak Bumi di Indonesia Sebuah Analisis Pengelolaan SDA Sektor Energi di Indonesia. *Institusi Pertanian Bogor*.
- Hutasoit, N., Ina, P. T., & Permana, I. D. G. M. (2016). Optimasi pH dan suhu pada aktivitas enzim lipase dari biji kakao (*Theobroma cacao* L.) Berkapang. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 5(2), 95-102.
- Irawati, S.P, Rahmawanty, D dan Fitriana, M. 2017. Karakterisasi Mikroemulsi Minyak Nilam (*Pogostemon cablin* Benth dengan pembawa Virgin Coconut Oil (VCO). Polisorbat 80 dan Sorbitol, *Jurnal Pharma Science*, 4(1), 109-115.
- Jauhari, N., Mishra, S., Kumari, B., & Singh, SN. 2014. Degradasi aerobik heksakosana yang dimediasi bakteri dalam kondisi in vitro. *Teknologi sumber daya hayati* , 170 , 62-68.
- Jayesree N., Norazah M.N., Abdul L.L . 2014. Characterization of Lipase Producing *Rhodococcus* sp. From Penisular Malaysia. *Journal of Life Sciences and Technologis*. 2(1). 12-19.
- Jumariah, J.2022. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Selulosa Pada Sedimen Mangrove Api-Api *Avicennia* sp. Kabupaten Maros. (*Doctoral dissertation, Universitas Hasanuddin*).
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2021. Perairan Kabupaten Karawang Terdampak Tumpahan Minyak. URL : <https://www.kkp.go.id/>. Diakses 21 Maret 2022.
- Kementrian Pertanian RI. 2016. Pandangan Nenas. [On line]. Tersedia dari <https://epublikasi.sekjen.pertanian.go.id>.
- KepMen-LH No. 51. 2004. Baku Mutu Air Laut untuk Biota Laut. Kementerian Lingkungan Hidup Republik Indonesia. Jakarta.

- Kusumaningtyas, MA, Bramawanto, R., Daulat, A., & Pranowo, WS (2014). Kualitas perairan Natuna pada musim transisi. *Depik* , **3** (1).
- Langangen, Olsen, E., Stige, LC, Ohlberger, J., Yaragina, NA, Vikeb, FB, & Hjermann, D. 2017. The effects of oil spills on marine fish: Implications of spatial variation in natural mortality. *Marine Pollution Bulletin*.119(1): 102-109.
- Lubis, R. R., Daryanto, A., Tambunan, M., & Rachman, H. P. 2014. Analisis efisiensi teknis produksi nanas: studi kasus di Kabupaten Subang, Jawa Barat. *Jurnal Agro Ekonomi*. **32**(2), 91-106.
- Latupeirissa, A. N., & Manuhutu, J. B. 2020. Analisis parameter fisika dan kesadahan air pdam wainitu ambon. *Molluca journal of chemistry education (mjoce)*, **10**(1), 1-7.
- Lestari, RAS, & Mulyaningsih, S. 2021. Pemanfatan Kulit Nanas (*Ananas Comosus L. Merr*) sebagai Bahan Baku Bioetanol. *Jurnal Teknik Kimia CHEMTAG* , **2** (2), 50-56.
- Lotti, M., & Alberghina, L. 2007. Lipase: struktur dan fungsi molekul. Dalam *enzim Industri: struktur, fungsi dan aplikasi* (hlm. 263-281). Dordrecht: Springer Belanda.
- Lubis, R. R., Daryanto, A., Tambunan, M., & Rachman, H. P. 2014. Analisis efisiensi teknis produksi nanas: studi kasus di Kabupaten Subang, Jawa Barat .
- Mainassy, Mellisa Carleen. 2017. Pengaruh Parameter Fisika dan Kimia Terhadap Kehadiran Ikan Lompa di Perairan Pantai Apui Kabupaten Maluku Tengah. *Jurnal Perikanan UGM XIX* (2), 61-66.
- Maisaroh, M., & Susetyo, I. B. 2017. Optimasi pada epoksidasi asam oleat sebagai bahan baku dalam sintesis asam 9, 10-Dihidroksi Stearat (DHSA). *Indonesian Journal of Industrial Research*, **34**(2), 96-103.
- Megawati, C., Yusuf, M., & Maslukah, L. 2014. Sebaran kualitas perairan ditinjau dari zat hara, oksigen terlarut dan pH di perairan selat bali bagian selatan. *Jurnal Oseanografi* , **3** (2),
- Mishra, S., & Singh, SN, 2012. Degradasi mikroba n-hexadecane dalam media garam mineral yang dimediasi oleh enzim degradatif. *Teknologi sumber daya hayati* , **111** , 148-154.
- Mishra, S., Singh, SN, & Pande, V. 2014. Bakteri menginduksi degradasi fluorantena dalam media garam minimal yang dimediasi oleh enzim katabolik dalam kondisi in vitro. *Teknologi sumber daya hayati* , **164** , 299-308.

- Mohapatra A, Rao VM, Ranjan M. 2013. Comparative Study of The Increase Production and Characteriation of Bromelain From the Peel, Pulp & Stem Pineapples. *IJOART*. **2**(8): 249-79.
- Mulyono N, Elisabeth R, Moi JG, Valentine BO, Suhartono MT. 2013. Kuantitas dan Kualitas Bromelain di beberapa bahasa Indonesia nanas Buah-buahan. *IJABPT*. **4**(2), 235 – 40.
- Nazim, F dan Meera V. 2015. Penggunaan Enzim Sampah sebagai Metode Alternatif Berbiaya Rendah untuk Pengobatan Tinjauan Greywater-A. *Jurnal Ilmu dan Teknik Lingkungan*.
- Nazim, F., & Meera, V. 2017. Comparison of treatment of greywater using garbage and citrus enzymes. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*. **6**(4): 49-54.
- Nazim, F., 2013. Pengelolaan Air Limbah Sintesis dengan Menggunakan Larutan Enzim Sampah 5% dan 10%. *Bonfring Internasional Journal of Industrial Engineering and Management Science*, 111-117.
- Neupane, K., & Khadka, R. 2019. Production of garbage enzyme from different fruit and vegetable wastes and evaluation of its enzymatic and antimicrobial efficacy. *Tribhuvan University Journal of Microbiology*. **6**, 113-118.
- Nilanjana D., Preethy C. 2011. Degradation of Petroleum an Overview. *Research: Biotechnology Research International*. 1-13.
- Nontji, A., 2002. Laut Nusantara. Penerbit Djambatan. Jakarta: 59-67.
- Novita, W., Arief, K., Nisa, FC, & Mardiyatmo, U. (2006). Karakterisasi parsial protease mentah yang diekstrak dari *Bacillus amyloliquefaciens* NRRL B-14396. *Jurnal Teknologi Pertanian* , 7 (2).
- Nurfajriah, NN, Mariati, FRI, Waluyo, MR, & Mahfud, H. 2021. Pelatihan Pembuatan Eco-Enzyme Sebagai Usaha Pengolahan Sampah Organik Pada Level Rumah Tangga. *Ikra-Ith Abdimas* , **4** (3), 194-197.
- Nurhidayati, Menik , Berlian Al Kindhi dan Fauzi Imaduddin Adhim. 2021. Implementasi Logika Fuzzy untuk Konrol Ph dan Salinitas Air Tambak. *Jurnal Teknik ITS*. **Vol. 10**. No 2

- Patty, SI.2013. Distribusi suhu, salinitas dan oksigen terlarut di Perairan Kema, Sulawesi Utara. *Jurnal Ilmiah Platax* , **1** (3).
- Poedjiadi, S. 2007. Dasar-Dasar Biokimia, Bandung.
- Pramiadi, D., Yulianti, E., & Rakhmawati, A. 2014. Isolasi dan uji aktivitas enzim lipase termostabil dari bakteri termofilik pasca erupsi Merapi. *Jurnal sains dasar*, **3**(1).
- Prasetio, V. M., Ristiawati, T., & Philiyanti, F. 2021. Manfaat Eco-Enzyme pada Lingkungan Hidup serta Workshop Pembuatan Eco-Enzyme. Darmacity: Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat, **1**(1), 21-29.
- Pratama, S.F., dan Handayani, D.2017. Pengaruh Isolaht Pseudomonas sp. dan Bacillus sp. dengan Biostimulasi Kompos Jerami Padi (*Oryza Sativa L.*) terhadap Penurunan Total Petroleum Hidrokarbon Tanah Tercemar Oli Bekas. *Jurnal Biosains*, **1**(2).
- Pratamadina, E dan Temmy W. 2022. Potensi Penggunaan Ecoenzimpada Degradasi Deterjen dalam Air Limbah Domestik. *Jurnal Serambi Engineering*. **7**(1), 2722-2728.
- Punbasayakul N, Samart K, Sudmee W. 2018. Antimicrobial Activity of Pineapple Peel Extract. Proceeding Of Innovation of Functional Foods in Asia Conference; 2018 April 24; Phayao. Thailand. Thailand:IFFA.
- Ramadani, A. H., Rosalina, R., & Ningrum, R. S. 2019. Pemberdayaan Kelompok Tani Dusun Puhrejo dalam Pengolahan Limbah Organik Kulit Nanas sebagai Pupuk Cair Eco-enzim. *Prosiding Seminar Nasional Hayati 7*. 20-21 September 2019, Kediri, Indonesia. 222-227.
- Risdiyanta, R. 2015. Mengenal Kilang Pengolahan Minyak Bumi (Refinery) di Indonesia. *Swara Patra: Majalah Ilmiah PPSDM Migas*, **5**(4).
- Rizal, S., Suharyono, S., Nurainy, F., & Merliyanisa, M. 2013. Pengaruh glukosa dan jahe merah terhadap karakteristik minuman probiotik dari kulit nanas madu. *Jurnal Teknologi Industri & Hasil Pertanian*, **25**(2), 110-119.
- Rochyani, Neny, Rih Laksmi Utpalasari dan Inka Dahliana. 2020. Analisis Hasil Konversi Eco Enzyme Menggunakan Nanas dan Papaya. **5**, 2.

- Rojo, F., 2009, Degradation of Alkanes by Bacteria, *Journal of Environmental Microbiology*, **11**(10), 2477-2490.
- Roni, K A, Tri S, Indra P dan Netty H. 2020. Peningkatan Kadar Bioetanol dari Kulit Nanas dengan Adsorben dari Limbah Katalis Bekas Cracking Pertamina RU III Plaju yang Teraktivasi secara Fisika. *Majalah Teknologi Agro Industri*. **12**(1),29-33.
- Rusdianasari, R., Syakdani, A., Zaman, M., Sari, FF, Nasyta, NP, & Amalia, R. 2021. Pemanfaatan Eco-Enzymes dari Limbah Kulit Buah sebagai Hand Sanitizer. *AJARCADE (Asian Journal of Applied Research for Community Development and Empowerment)* , **5** (3), 23-27.
- Safitri, I., Yuliono, A., Sofiana, M. S. J., Helena, S., Kushadiwijayanto, A. A., & Warsidah, W. 2021. Peningkatan Kesehatan Masyarakat Teluk Batang secara Mandiri melalui pembuatan Handsanitizer dan Desinfektan berbasis Eco-Enzyme dari Limbah Sayuran dan Buah. *Journal of Community Engagement in Health*, **4**(2), 371-377.
- Salmin. 2005. Oksigen Terlarut (DO) dan Kebutuhan Oksigen Biologi (BOD) Sebagai Salah Satu Indikator Untuk Menentukan Kualitas Perairan. Oseana. **Vol. 30**. No. 3..
- Scott, G.J., 2008, Insect Cytochrome P450s: Thinking Beyond Detoxification, *Journal of Toxicology and Molecular Biology*, **2**, 117-124.
- Sembiring, SBM, Hutapea, JH, Giri, INA, Pratiwi, R., & Hadisusanto, S. 2022. Karakterisasi enzim pencernaan dari juvenil ikan pasir, *Holothuria scabra*. Dalam *Seri Konferensi IOP: Ilmu Bumi dan Lingkungan (Vol. 1033, No. 1, hlm. 012016)*. Penerbitan TIO.
- Septi, Yurika. 2022. Analisis Kualitas Air di Wisata Pemandian Way Belerang Simpur Desa Kecapi Kecamatan Kalianda Kabupaten Lampung Selatan Provinsi Lampung. Skripsi. Fakultas Tarbiyah dan Keguruan. Universitas Islam Negeri Raden Intan Lampung.
- Singh, S. N., Kumari, B., Upadhyay, S. K., Mishra, S., & Kumar, D. 2013. Bacterial degradation of pyrene in minimal salt medium mediated by catechol dioxygenases: enzyme purification and molecular size determination. *Bioresource technology*, **133**, 293-300.

- Sulistiyono. 2012. Dampak Tumpahan Minyak (*oil spill*) di Perairan Laut pada Kegiatan Industri Migas dan Metode Penanggulangannya.. *Forum Teknologi*. **03** No.1.
- Sundari, I. 2020. Karakterisasi Morfologi Dan Kualitas Buah Tanaman Nanas (*Ananas Comosus (l.) Merr.*) Lokal di kabupaten siak (Disertasi Doktor, UIN SULTAN SYARIF KASIM RIAU).
- Supriyatna, Ateng, Dea Amalia, Ayu Agustini Jauhari dan Dyana Holydaziah. 2015. Aktivitas Enzim Amilase, Lipase dan Protease dari Larva. Edisi Juli 2015. **IX.2.**
- Tahir, R. B. (2016). Analisis sebaran kadar oksigen (O<sub>2</sub>) dan kadar oksigen terlarut (Dissolved Oxygen) dengan menggunakan data IN SITU dan citra satelit Landsat 8 (Studi kasus: Wilayah Gili Iyang Kabupaten Sumenep). *Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan. Institut Teknologi Sepuluh November. Surabaya.*
- UNCTAD. 2016. NANAS. Jenewa: Sebuah INFOCOMM Komoditas Profile.
- Upadhyay, N., Dwivedy, A. K., Kumar, M., Prakash, B., & Dubey, N. K. 2018. Essential oils as eco-friendly alternatives to synthetic pesticides for the control of *Tribolium castaneum* (Herbst)(Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. **21**(2), 282-297.
- Wahana Lingkungan Hidup Indonesia. 2022. Pencemaran Minyak di Laut Lampung Terus Berulang, WALHI: Pemerintah Harus Usut Tuntas Pelaku Pencemaran. <https://www.walhi.or.id/pencemaran-minyak-di-laut-lampung-terusberulang-walhi-pemerintah-harus-usut-tuntas-pelaku-pencemaran>. Diakses 22 Maret 2022.
- Wahyuni, A. R. T. 2019. Analisis Kemampuan Bakteri Dari Perairan Tercemar Yang Berpotensi Sebagai Agen Bioremediasi Limbah Hidrokarbon Minyak Solar (Doctoral dissertation, Universitas Brawijaya).
- Waluyo, 2018. *Bioremediasi Limbah*. Edisi 1, UMM Press, Malang.
- Wardhani, W K dan Harmin S T. 2020. Studi Literatur Alternatif Penanganan Tumpahan Minyak Mentah Menggunakan *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas putida* Studi Kasus : Tumpahan Minyak Mentah Sumur YYA-1. *Jurnal Teknik ITS*. **9** (2): F97-F102.

- Wayoi, Grafelia P. Fette. 2018. Bioremediasi Air Laut Terkontaminasi Limbah Minyak Menggunakan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Skripsi. Departemen Teknik Lingkungan Fakultas Teknik. Universitas Hasanuddin Makassar.
- Widyastanti, S., & Widyaningrum, T. 2022. Produksi Bioetanol Limbah Nasi Aking Fermentasi Menggunakan *Zymomonas mobilis* dengan Perlakuan Konsentrasi Crude Enzim *Bacillus amyloliquefaciens*. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, **10**(2), 901-908.
- Wulandari, N. 2016. Pengolahan Limbah Cair Minyak Bumi Pada Job Pertamina--Medco E & P Tomori Sulawesi Kabupaten Morowali Utara Provinsi Sulawesi Tengah. *Jurnal Geomine*. **4**(1), 28-32.
- Wulandari, W., Supriadi, A., & Purwanto, B. (2013). Pengaruh defatting dan suhu ekstraksi terhadap karakteristik fisik gelatin tulang ikan gabus. *Jurnal fishtech*, **2**(1), 38-45.
- Xie Y, Yang W, Chen X. 2015. Antibacterial Activities of Flavonoids: Structure-Activity Relationship and Mechanism. *Curr Med Chem*. **22**(1):1-10.
- Yunita, M., Hendrawan, Y., dan Yulianingsih, R. (2015). Analisis kuantitatif mikrobiologi pada makanan penerbangan (Aerofood ACS) garuda Indonesia berdasarkan TPC (Total Plate Count) dengan metode pour plate. *Jurnal Keteknik Pertanian Tropis dan Biosistem*, **3**(3), 237-248.
- Zainudin, Z., & Kesumaningwati, R. 2022. Pengaruh Eco Enzyme terhadap Kandungan Logam Berat Lahan Bekas Tambang Batubara *ZIRAA'AH MAJALAH ILMIAH PERTANIAN*, **47**(2), 154-161.