

KAPASITAS BIODEGRADASI PETROLEUM OLEH PEEBAPPA  
ISOLAT BAKTERI DARI SUKARA KELUYA KOTING

MAKASSAR  
2000



Tgl. Pengantar	11-07-07
Fak.	Fak. Mipa.
Kelas	I eks
Nama	Hadiah
No. Inventaris	1093
No. Klas.	36803

JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2000

**KAPASITAS BIODEGRADASI PETROLEUM OLEH BEBERAPA  
ISOLAT BAKTERI LAUT SECARA KULTUR MURNI**



**OLEH  
NAIDAH ARMAN  
93 03 089**

**PEMBIMBING UTAMA : DR. DIRAYAH R. HUSAIN, DEA  
PEMBIMBING PERTAMA : Drs. BEDDU JAWAHIR, M.Si**

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**2000**

# SKRIPSI

Oleh:

NAIDAH ARMAN

93 03 089



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2000**

**KAPASITAS BIODEGRADASI PETROLEUM OLEH BEBERAPA  
ISOLAT BAKTERI LAUT SECARA KULTUR MURNI**

Oleh:

**NAIDAH ARMAN**

93 03 089

*Skripsi Ini Diajukan Untuk Melengkapi Tugas dan Memenuhi  
Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana*

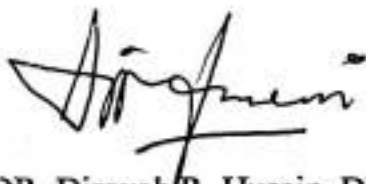
**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2000**

**KAPASITAS BIODEGRADASI PETROLEUM OLEH BEBERAPA  
ISOLAT BAKTERI LAUT SECARA KULTUR MURNI**

**OLEH  
NAIDAH ARMAN  
93 03 089**

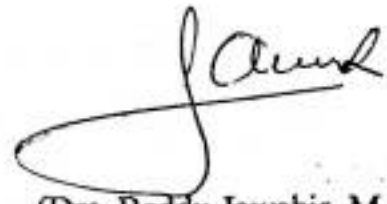
Disetujui Oleh:

Pembimbing Utama



(DR. Dirayah R. Husain, DEA)

Pembimbing Pertama



(Drs. Beddu Jawahir, M.Si)

Makassar, Maret 2000

## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang Kapasitas Biodegradasi Petroleum Oleh Beberapa Isolat Bakteri Laut Secara Kultur Murni. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kapasitas isolat bakteri Gram negatif dan Gram positif dalam mendegradasi petroleum secara kuantitatif dan kualitatif. Pada penelitian ini digunakan delapan isolat bakteri yang diisolasi dari perairan Pertamina Pare-pare. Hasil pengukuran pertumbuhan didapatkan nilai densitas optik tertinggi dari pada kultur I<sub>3</sub> (2,30) dan I<sub>5</sub> (2,30) yang merupakan bakteri gram negatif dan I<sub>4</sub> (2,00) yang berasal dari bakteri gram positif. Analisa kuantitatif diperoleh prosentase biodegradasi tertinggi pada kultur I<sub>5</sub> (72,9%), I<sub>7</sub> (69,8%) dan I<sub>3</sub> (63,8%), yang merupakan bakteri gram negatif. Sedangkan kultur I<sub>2</sub> dan I<sub>4</sub> yang berasal dari bakteri gram positif hanya memperoleh prosentase biodegradasi 45,9% dan 58,7%. Analisa kualitatif dibuat untuk mengetahui adanya pemutusan rantai karbon n-alkana dalam petroleum, secara umum masing-masing kultur dapat memutuskan rantai karbon fraksi n-alkana (C<sub>10</sub> – C<sub>30</sub>), kecuali rantai karbon C<sub>18</sub> hanya dapat diputuskan oleh kultur I<sub>5</sub>, I<sub>6</sub> dan I<sub>8</sub> yang merupakan bakteri gram negatif. Sedangkan kultur I<sub>2</sub> dan I<sub>4</sub> yang merupakan bakteri gram positif tidak mampu memutuskan rantai karbon C<sub>18</sub>.

*Kata Kunci: Biodegradasi, Analisis, Petroleum, Kultur murni bakteri*

## ABSTRAC

Some Isolate Marine Bacteria with Pure Culture did a research about the Biodegradation Capacity Petroleum. This research was aimed to know isolate capacity bacteria gram negative and gram positive when they degradation petroleum in quantitative and qualitative. This research was done use eight isolate bacteria, which isolated from territorial waters of Pertamina Pare-pare. The result of growth measurement showed the highest optical density was I<sub>3</sub> (2,30) and I<sub>5</sub> (2,30) which bacteria gram negative and, I<sub>4</sub> (2,00), which bacteria gram positive. Quantitative analysis showed biodegradation percentage the highest was culture I<sub>5</sub> (72,9%), I<sub>7</sub> (69,8%) and I<sub>3</sub> (63,8%), which bacteria gram negative (-). Culture I<sub>2</sub> and I<sub>4</sub> which bacteria gram positive just showed biodegradation percentage 45,9% and 58,7%. Qualitative analyses were conducted to determine the circulation of n-alkanes carbon in petroleum, generally each culture was able to separate carbon circulate fraction n-alkana (C<sub>10</sub> – C<sub>30</sub>), expect carbon circulate C<sub>18</sub> only was able to cut by culture I<sub>5</sub>, I<sub>6</sub> and I<sub>8</sub> which bacteria gram negative. Culture I<sub>2</sub> and culture I<sub>4</sub> were bacteria gram positive was disable to separate carbon circulate C<sub>18</sub>.

*Key Words: Biodegradation, Analysis, Petroleum and Bacteria pure culture*

## KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillah, puji dan syukur hanya bagi Allah Subhana Wata'ala semata dengan dilimpahkannya begitu banyak nikmat-Nya kepada penulis, sehingga kami dapat menyusun skripsi ini sebagaimana yang diharapkan.

Skripsi dengan judul "Kapasitas Biodegradasi Petroleum oleh Beberapa Isolat Bakteri Laut Secara Kultur Murni", disusun sebagai salah satu syarat dalam mencapai gelar sarjana pada Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam UNHAS. Tak lupa, penulis ucapkan terima kasih yang setulusnya dan tak terhingga kepada Ibu DR. Dirayah R. Husain, DEA dan Bapak Drs. Beddu Jawahir, M.Si, selaku pembimbing tugas akhir atas segala saran, nasehat dan bimbingannya selama pelaksanaan penelitian dan penulisan skripsi ini.

Pada kesempatan ini pula, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ayahanda Abdurrahman dan Ibunda Nadirah, serta saudara-saudara yang tercinta yang telah banyak membantu penulis baik material maupun spiritual.
2. Bapak Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin beserta stafnya.
3. Ibu Ketua Jurusan Biologi atas segala bantuannya.
4. Penasehat akademik Bapak Ir. Slamet Santosa.
5. Seluruh staf dosen yang selalu membantu penulis selama menjalani perkuliahan.
6. Bapak Eddyman W. Ferial S.Si, M.Si, selaku koordinator seminar



7. Semua teman-teman angkatan'93 Biologi FMIPA yang telah banyak memberikan bantuan dan dorongan semangat dalam melaksanakan penelitian ini, terutama untuk Endang, Ija, Muna, Muli, Yayi, Is dan semua akhawaat yang telah banyak mengorbankan waktu dan tenaganya dalam kelancaran penelitian ini.

Dan kepada semua pihak yang tidak dapat kami sebutkan namanya satu persatu, yang telah ikut membantu mulai dari awal sampai akhir penyusunan skripsi ini.

Skripsi ini penulis persembahkan untuk almamater tercinta, UNHAS, sebagai bahan informasi khususnya untuk bidang mikrobiologi laut dan pencemaran lingkungan. Akhirnya penulis mengharapkan semoga skripsi ini dapat membawa manfaat bagi dunia pendidikan.

Semoga Allah Subhana Wata'ala senantiasa melimpahkan Rahmat-Nya kepada kita semua. Amin Ya Rabbal 'Alamin.

Makassar,     Maret 2000

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Judul	i
Halaman Pengesahan	iii
Abstrak	iv
Abstract	v
Kata Pengantar	vi
Daftar Isi	viii
Daftar Gambar	xi
Daftar Tabel	xii
Daftar Grafik	xiii
Bab I Pendahuluan .....	1
I.1 Latar Belakang .....	1
I.2 Maksud dan Tujuan Penelitian .....	3
I.2.1 Maksud Penelitian .....	3
I.2.2 Tujuan Penelitian .....	3
I.3 Hipotesis .....	4
I.4 Manfaat Penelitian .....	4
I.5 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
I.5.1 Waktu Penelitian .....	4
I.5.2 Tempat Penelitian .....	4
Bab II Tinjauan Pustaka .....	5
II.1 Hidrokarbon Petroleum dalam Lingkungan Laut .....	5
II.2 Proses-proses yang Mempengaruhi Kehadiran Minyak Mentah dalam Lingkungan Laut .....	8
II.2.1 Kehadiran Minyak Mentah pada Permukaan Air .....	8
II.2.2 Kehadiran Minyak Mentah di dalam Air .....	9
II.2.3 Kehadiran Minyak Mentah di dalam Sedimen .....	9

II.3 Bakteri pada Lingkungan Laut .....	10
II.4 Mikroorganisme Pendegradasi Hidrokarbon .....	12
II.5 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Biodegradasi Hidrokarbon .....	14
Bab III Alat, Bahan dan Metode Kerja .....	19
III.1 Alat .....	19
III.1.1 Peralatan untuk Analisa Mikrobiologi .....	19
III.1.2 Peralatan untuk Analisa Kimia .....	20
III.2 Bahan .....	20
III.3 Metode Kerja .....	22
III.3.1 Sterilisasi Alat .....	22
III.3.2 Pembuatan Medium .....	22
III.3.3 Pembuatan Sumber Nutrien .....	24
III.3.4 Pembuatan Zat Warna .....	25
III.3.5 Peremajaan Isolat Bakteri .....	26
III.3.6 Pengecatan Bakteri .....	27
III.3.7 Penanaman untuk Prakultur .....	28
III.3.8 Penanaman untuk Kultur .....	28
III.3.9 Pengamatan Pertumbuhan .....	28
III.3.10 Analisa Efektifitas Biodegradasi Petroleum Secara Kuantitatif .....	29
III.3.11 Analisa Biodegradasi Hidrokarbon Secara Kualitatif .....	30
III.3.12 Analisa Data .....	30
Bab IV Hasil dan Pembahasan .....	32
IV.1 Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon .....	32
IV.1.1 Tahap Prakultur .....	35
IV.1.2 Tahap Kultur .....	36
IV.2 Pertumbuhan Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon .....	36
IV.2.1 Karakteristik Kultur Secara Visual .....	36

IV.2.2 Kurva Pertumbuhan .....	44
IV.3 Kapasitas Biodegradasi .....	56
IV.3.1 Secara Kuantitatif .....	56
IV.3.2 Secara Kualitatif .....	59
Bab V Kesimpulan dan Saran .....	66
V.1 Kesimpulan .....	66
V.2 Saran .....	67
Daftar Pustaka .....	68

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Skema Hidrokarbon di Lingkungan Laut .....	6
2. Koloni Isolat Bakteri I <sub>1</sub> dan I <sub>2</sub> .....	33
3. Koloni Isolat Bakteri I <sub>3</sub> dan I <sub>5</sub> .....	34
4. Koloni Isolat Bakteri I <sub>4</sub> dan I <sub>6</sub> .....	34
5. Koloni Isolat Bakteri I <sub>7</sub> dan I <sub>8</sub> .....	35
6. Warna dan Kondisi Substrat Petroleum Kultur Isolat pada Awal Inkubasi ...	40
7. Warna dan Kondisi Substrat Petroleum Kultur Isolat pada Awal Inkubasi ...	41
8. Warna dan Kondisi Substrat Petroleum Kultur I <sub>1</sub> dan I <sub>2</sub> pada Akhir Inkubasi	42
9. Warna dan Kondisi Substrat Petroleum Kultur I <sub>3</sub> dan I <sub>4</sub> pada Akhir Inkubasi	42
10. Warna dan Kondisi Substrat Petroleum Kultur I <sub>5</sub> dan I <sub>6</sub> pada Akhir Inkubasi .....	43
11. Warna dan Kondisi Substrat Petroleum Kultur I <sub>7</sub> dan I <sub>8</sub> pada Akhir Inkubasi .....	43
12. Kromatogram dengan subtrat Petroleum (Kontrol) .....	61
13. Kromatogram dengan subtrat Petroleum (Kultur I <sub>1</sub> ) .....	62
14. Kromatogram dengan subtrat Petroleum (Kultur I <sub>2</sub> ) .....	62
15. Kromatogram dengan subtrat Petroleum (Kultur I <sub>3</sub> ) .....	63
16. Kromatogram dengan subtrat Petroleum (Kultur I <sub>4</sub> ) .....	63
17. Kromatogram dengan subtrat Petroleum (Kultur I <sub>5</sub> ) .....	64
18. Kromatogram dengan subtrat Petroleum (Kultur I <sub>6</sub> ) .....	64
19. Kromatogram dengan subtrat Petroleum (Kultur I <sub>7</sub> ) .....	65
20. Kromatogram dengan subtrat Petroleum (Kultur I <sub>8</sub> ) .....	65

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Pengamatan Morfologi dari Isolat Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon .....	33
2. Hasil Pengamatan Secara Visual Perubahan Kultur Murni dan Kondisi Substrat Petroleum Selama Waktu Inkubasi pada Isolat yang Berbeda .....	37
3. Hasil Perhitungan Masa Generasi Bakteri pada Substrat Petroleum .....	55
4. Hasil Analisa Kuantitatif Hidrokarbon (Ekstraksi ) Petroleum pada masing- masing Kultur .....	57

## DAFTAR GRAFIK

Grafik	Halaman
1. Kurva Pertumbuhan Kultur I <sub>1</sub> dengan Substrat Petroleum.....	47
2. Kurva Pertumbuhan Kultur I <sub>2</sub> dengan Substrat Petroleum.....	48
3. Kurva Pertumbuhan Kultur I <sub>3</sub> dengan Substrat Petroleum.....	49
4. Kurva Pertumbuhan Kultur I <sub>4</sub> dengan Substrat Petroleum.....	50
5. Kurva Pertumbuhan Kultur I <sub>5</sub> dengan Substrat Petroleum.....	51
6. Kurva Pertumbuhan Kultur I <sub>6</sub> dengan Substrat Petroleum.....	52
7. Kurva Pertumbuhan Kultur I <sub>7</sub> dengan Substrat Petroleum.....	53
8. Kurva Pertumbuhan Kultur I <sub>9</sub> dengan Substrat Petroleum.....	54

# BAB I

## PENDAHULUAN



### I.1 Latar Belakang

Industri minyak dan gas bumi telah berlangsung lama di Indonesia. Industri ini memberikan sumbangan yang sangat besar bagi devisa negara terutama pada dekade sebelum 1980-an. Sebaliknya industri ini pula, telah memberikan efek negatif yaitu menyebabkan pencemaran lingkungan. Pencemaran tersebut (1), berupa masuknya polutan minyak mentah di dalam laut diseluruh dunia oleh Leahy dan Colwell yang diperkirakan setiap tahun antara 1,7 dan 8,8 milyar meter ton.

Kehadiran minyak mentah sebagai bahan pencemar pada air laut antara lain dapat berasal dari tumpahan minyak tempat pengeboran minyak lepas pantai, kebocoran kapal tanker, atau aktifitas transportasi laut. Seperti yang terjadi di Texas (2), lebih dari 200.000 barrel minyak yang tertumpah dari tanker minyak Exxon Valdez, juga yang terjadi di negara Amerika Serikat tepatnya di Pulau Rhode dan Pantai Delaware.

Pencemaran suatu perairan oleh minyak mentah dapat mencapai distribusi yang luas, dan cenderung menyebar serta menutupi lapisan permukaan, sehingga dapat mencemari dan menimbulkan efek yang berbahaya bagi organisme yang hidup dalam perairan. Minyak mentah yang masuk ke dalam perairan dapat hilang dengan cepat akibat dari proses, yaitu: evaporasi, sedimentasi, fotooksidasi, emulsifikasi, dan biodegradasi mikroba. Proses-proses ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu:



suhu, kecepatan angin, radiasi cahaya, ketebalan lapisan dan komposisi minyak serta jumlah mikroba pendegradasi (3).

Beberapa cara penanggulangan dikemukakan oleh para ahli untuk mengatasi pencemaran minyak di laut, yaitu secara fisika, kimia, dan biologi (4)

Secara biologi, yaitu dengan melibatkan peranan mikroorganisme yang dapat menguraikan minyak bumi menjadi senyawa-senyawa yang tidak berbahaya, antara lain dengan biodegradasi.

Pada proses biodegradasi petroleum, mikroorganisme memanfaatkan senyawa hidrokarbon sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi untuk pertumbuhannya. Dalam lingkungan laut bakteri merupakan mikroorganisme yang paling penting peranannya dalam mendegradasi hidrokarbon (1). Begitu pula populasi bakteri di dalam laut yang tercemar oleh hidrokarbon akan sangat dominan bila dibandingkan dengan mikroorganisme lainnya (5).

Sebagian besar bakteri laut adalah tergolong Gram negatif. Hasil penelitian dari Zobell dan Upham (5), pada perairan Selatan California memberikan hasil 80 % species yang ditemukan adalah Gram negatif. Demikian pula dengan hasil yang serupa pada penelitiannya di Laut Utara Daerah Baltik dan juga Laut Arab.

Dari penelitian beberapa ahli (1), telah diperoleh hasil beberapa bakteri laut yang mampu mendegradasi minyak bumi, diantaranya dari jenis *Flavobacterium*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Achrobacter*, *Micrococcus* dan *Nocardia*.

Hasil penelitian Atlas dan Bartha (6), menunjukkan bahwa jenis bakteri *Flavobacterium sp.* yang bersifat Gram negatif memiliki kapasitas biodegradasi terhadap petroleum lebih tinggi (57%) bila dibandingkan dengan jenis bakteri *Brevibacterium sp.* (40%) yang bersifat Gram positif, setelah diinkubasi selama 12 hari.

Keberhasilan dari para ahli tersebut di atas mendorong peneliti untuk membandingkan kemampuan kapasitas biodegradasi antara bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Pada penelitian ini digunakan 6 isolat bakteri Gram negatif dan 2 isolat bakteri Gram positif secara kultur murni. Hal ini diharapkan dapat menjadi suatu langkah awal dalam penentuan untuk memilih bakteri dalam rangka penanggulangan pencemaran hidrokarbon pada kondisi lingkungan bergaram.

## **I.2 Maksud dan Tujuan Penelitian**

### **I.2.1 Maksud Penelitian**

Penelitian ini dimaksudkan untuk menguji kapasitas beberapa jenis bakteri laut Gram negatif dan Gram Positif dalam mendegradasi hidrokarbon secara kultur murni.

### **I.2.2 Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kapasitas isolat bakteri Gram negatif dan Gram positif dalam mendegradasi hidrokarbon petroleum secara kuantitatif dan kualitatif.

### **I.3 Hipotesis**

Bakteri laut Gram negatif memiliki kapasitas biodegradasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan Gram positif

### **I.4 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat untuk:

1. Memberikan informasi mengenai kapasitas bakteri laut Gram negatif dan Gram positif dalam mendegradasi hidrokarbon secara kualitatif dan kuantitatif.
2. Menambah informasi mengenai kemampuan atau kapasitas bakteri laut Gram negatif pendegradasi hidrokarbon dalam menanggulangi pencemaran minyak mentah.
3. Menambah koleksi bakteri laut Gram negatif dan Gram positif yang kelak akan menunjang penelitian-penelitian selanjutnya.

### **I.5 Waktu dan Tempat Penelitian**

#### **I.5.1 Waktu Penelitian**

Penelitian ini berlangsung mulai bulan Maret 1999 sampai Oktober 1999

#### **I.5.2 Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Laboratorium Kimia Dasar Jurusan Kimia dan Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

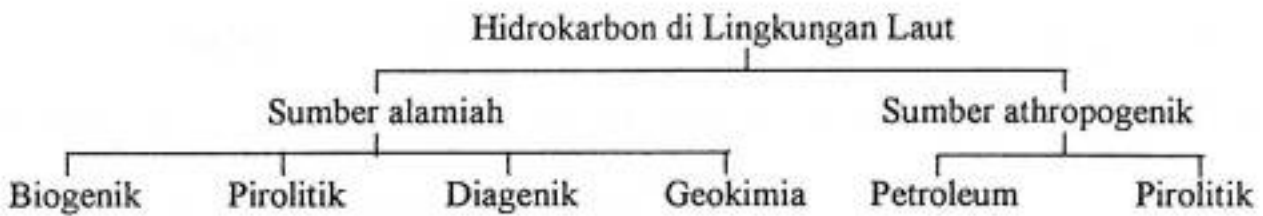
#### **II.1 Hidrokarbon Petroleum dalam Lingkungan Laut**

Minyak mentah dan beberapa produk destilatnya merupakan campuran yang sangat kompleks dari senyawa-senyawa organik. Minyak mentah mengandung sedikitnya sepuluh ribu senyawa termasuk hidrokarbon dan senyawa logam (7). Sebagian dari zat-zat organik tersebut adalah senyawa hidrokarbon. Senyawa-senyawa ini hanya terdiri dari unsur-unsur hidrogen dan karbon, seperti alkana, olefin dan aromatik. Senyawa hidrokarbon yang terdapat secara alamiah pada konsentrasi tertentu toksik terhadap sistem kehidupan (3).

Produk minyak bumi mengandung 90 % hidrokarbon, yang sisanya tersusun dari komponen-komponen oksigen, nitrogen dan sulfur. Prosentase karbon sekitar: 80 – 85 %, hidrogen: 10 – 15 %, sulfur: 0 – 10 %, nitrogen; 0 – 1 %, dan ditambah beberapa kandungan logam dengan prosentase yang kecil seperti: vanadium, nikel, besi, natrium, calsium dan uranium (8).

Sumber hidrokarbon dalam lingkungan laut dibagi atas dua bagian besar yaitu hidrokarbon alamiah dan hidrokarbon anthropogenik. Hidrokarbon alamiah dapat terjadi secara biogenik, pirolitik, diagenik dan geokimia. Sedangkan sumber anthropogenik berasal dari petroleum dan pirolitik.

Berikut diagram sumber-sumber hidrokarbon di laut (9):



### **Biogenik**

Hidrokarbon biogenik adalah hidrokarbon yang dihasilkan dari sintesis dan metabolisme yang dilakukan oleh mikroorganisme, atau dengan mengkonversi senyawa-senyawa prekursor dalam makanannya. Hidrokarbon tersebut dilepaskan ke dalam laut dengan cara ekresi atau autolisis oleh organisme hidup melalui dekomposisi organisme yang telah mati.

### **Pirolitik**

Hidrokarbon pirolitik adalah hidrokarbon yang berasal dari hasil pembakaran vegetasi (hutan) yang dilepaskan ke atmosfer dalam bentuk partikel kecil dan akhirnya jatuh ke laut. Hidrokarbon ini juga dapat berasal dari hasil pembakaran kendaraan bermotor yang beroperasi di lingkungan laut.

### **Diagenik**

Hidrokarbon diagenik berasal dari proses kimia yang berlangsung dalam jangka waktu yang pendek.

## **Geokimia**

Hidrokarbon geokimia berasal dari proses geologi seperti penyusunan minyak dari tanah bawah dasar laut dan pantai yang berlangsung dalam jangka waktu yang sangat lama sekali bahkan berjuta-juta tahun.

## **Sumber Anthropogenik**

Sebagian besar hidrokarbon jenis ini berasal dari minyak bumi (hidrokarbon petroleum) dan dari produk destilat lainnya yang terbang melalui aktifitas manusia. Hidrokarbon tersebut dapat juga berasal dari partikel-partikel hasil pembakaran minyak bermotor yang beroperasi di lingkungan laut (9).

Minyak mentah yang masuk ke dalam laut setiap tahunnya dapat mencapai bermilyar ton. Kehadiran minyak mentah di laut dapat berasal dari transportasi laut, produksi minyak lepas pantai, kilang minyak dan pembuangan kotoran. Masukan terbesar adalah berasal dari produksi minyak dan transportasi laut (3).

Menurut National Academy of Science (1985) bahwa lebih dari 6500 juta ton petroleum tersebut terbang di laut setiap tahunnya. Hal ini disebabkan antara lain oleh kecelakaan kapal, kebocoran kapal tanker dan tumpahan selama operasi lepas pantai. Produk ini sangat berbahaya bagi organisme yang hidup di perairan yang tercemar oleh polutan ini (10).

Komponen minyak mentah yang masuk ke dalam laut, diantaranya ada yang memiliki waktu menetap yang singkat dan beberapa komponen jatuh ke dasar laut oleh proses sedimentasi (3).

## **II.2 Proses-proses yang Mempengaruhi Kehadiran Minyak Mentah dalam Lingkungan Laut**

Terjadinya tumpahan minyak mentah atau oleh peristiwa lain dapat menambah kadar hidrokarbon minyak mentah secara kuantitatif pada lingkungan laut. Minyak mentah cenderung menyebar oleh adanya kontak dengan air laut dan ini selanjutnya dipengaruhi oleh:

1. Faktor abiotik termasuk evaporasi, dissolusi, dispersal, sedimentasi, dan
2. Faktor biotik dan biodegradasi.

Semua parameter-parameter ini akan terjadi secara berkelanjutan dan kontribusinya relatif lebih kuat dan tergantung pada ketersediaan minyak di alam, konsentrasi dari minyak dan pada kondisi cuaca dan iklim (11).

### **II.2.1 Kehadiran Minyak Mentah pada Permukaan Air**

Minyak mentah yang masuk ke dalam air akan membentuk lapisan. Arus, gelombang, dan angin dapat menyebabkan tersebarnya lapisan minyak menjadi lapisan yang tipis. Minyak mentah yang lebih tebal tidak cepat menyebar dibandingkan dengan minyak yang kurang tebal. Pada laut terbuka, angin menentukan arah dan kecepatan tersebarnya lapisan minyak (3).

Proses yang menyebabkan hilangnya lapisan minyak mentah adalah evaporasi, emulsifikasi, oksidasi fotokimia dan degradasi oleh mikroba (3).

Evaporasi terjadi sehubungan dengan menghilangnya komponen minyak mentah yang mudah menguap segera setelah membentuk lapisan. Hidrokarbon di bawah  $C_{15}$  (titik didih  $< 250^{\circ}C$ ) dapat menguap dalam beberapa hari. Sedangkan



hidrokarbon antara  $C_{15}$  dan  $C_{25}$ , menunjukkan volatilitas terbatas dan banyak yang tinggal dalam minyak. Sedangkan diatas  $C_{25}$  sangat sedikit yang hilang dari proses ini. Kecepatan evaporasi dipengaruhi oleh suhu, kecepatan angin, radiasi cahaya, ketebalan lapisan minyak, dan komposisi kimia minyak mentah (3).

Fotooksidasi dan proses degradasi oleh mikroba adalah proses utama yang menyebabkan terurainya komponen-komponen di dalam lapisan minyak (3).

Radiasi cahaya matahari dapat mendegradasi komponen minyak mentah secara fotokimia. Degradasi minyak mentah secara fotokimia pada lapisan 0,04 mm dari permukaan dapat membutuhkan waktu tiga tahun. Tetapi pada lapisan minyak yang tipis dapat terdegradasi dalam beberapa hari (3).

### **II.2.2 Kehadiran Minyak mentah di dalam Air**

Komponen minyak mentah dapat larut melalui proses fotokimia, absorpsi atau menjadi partikel yang tersuspensi, tersedimentasi, teroksidasi dan terdegradasi, misalnya suatu proses oksidasi fotokimia bergabung dengan mikroba pendegradasi (3).

### **II.2.3 Kehadiran Minyak mentah di dalam Sedimen**

Meskipun sulit untuk mengukur di lapangan, namun diketahui bahwa proses sedimentasi terjadi dengan terbenamnya minyak mentah ke dasar laut dalam jumlah yang besar. Konsitituen minyak bumi yang tahan terhadap proses degradasi akan bergabung membentuk suatu gumpalan-gumpalan. Dengan adanya gerakan air laut, gumpalan tersebut akan turun ke dasar laut dan masuk kedalam sedimen.



Faktor utama yang mempengaruhi hilangnya minyak mentah di dalam sedimen adalah kecepatan biodegradasi. Umumnya biodegradasi lebih cepat terjadi pada permukaan sedimen. Komunitas mikroba di dalam sedimen bertanggung jawab terhadap biodegradasi minyak mentah di dalam sedimen. Mikroorganisme yang bersifat bentik dan sebagai pemakan deposit, berperan penting di dalam proses oksidasi. Serta berperan pula dalam perputaran siklus bahan organik pada sedimen (3)


### II.3 Bakteri pada Lingkungan Laut

Salinitas pada air laut di daerah tropis rata-rata 35 ‰. Sedangkan ion-ion utama yang terdapat dalam air laut adalah  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  dan  $\text{K}^+$  (12).

Kebanyakan bakteri laut adalah halofilik, mereka membutuhkan NaCl untuk pertumbuhannya. Bakteri laut dibedakan menjadi 3 golongan berdasarkan kemampuannya untuk hidup pada lingkungan kadar garam, yaitu:

- Bakteri halofilik rendah dengan konsentrasi garam yang optimum 2 – 5 ‰.
- Bakteri halofilik menengah dengan konsentrasi garam optimum 5 – 20 ‰.
- Bakteri halofilik tinggi dengan konsentrasi garam optimum 20 – 30 ‰.

Namun terdapat bakteri laut yang masih dapat tumbuh baik pada konsentrasi garam 25 – 40 ‰. Di samping bakteri laut yang halofilik, di dalam habitat laut yang lain juga terdapat bakteri halotoleran, yaitu bakteri yang dapat tumbuh dalam media air tawar (5).



Sebagian besar bakteri laut adalah tergolong Gram negatif. Hasil penelitian dari ZoBell dan Upham pada perairan selatan California memberikan hasil 80 % individu yang ditemukan adalah Gram negatif. Demikian pula dengan hasil penelitian di Laut Utara Baltik dan juga Laut Arab memberikan hasil yang serupa (5).

Di perairan Laut Australia yang banyak ditumbuhi rumput laut, Moriarty dan Hayward menemukan pada bagian sedimen laut sekitar 90 % dari populasi bakterinya adalah Gram negatif yang bersifat aerob (lapisan 0 – 1 cm) dan 70 % bersifat anaerob (lapisan 20 – 21 cm) (13).

Umumnya bakteri yang ditemukan di dalam laut adalah motil. Hasil penelitian yang dilakukan oleh ZoBell bahwa sekitar 75 – 85 % dari kultur murni yang telah diuji karakteristiknya memiliki flagella (5).

Kebanyakan bakteri laut pertumbuhannya lebih lambat dibandingkan dengan bakteri darat. Hal ini dibuktikan dengan tanah yang diinokulasikan pada media agar. Setelah diinkubasi pada suhu optimum jumlah koloni nampak setelah 2 – 7 hari. Sedangkan dengan sampel air laut atau sedimen laut, jumlah koloni yang mampu hidup maksimum dicapai setelah 14 – 18 hari. Kebanyakan bakteri laut dapat menggunakan nutrien dalam konsentrasi yang rendah, kemampuan ini adalah juga suatu persyaratan untuk pertumbuhannya di dalam air laut, dimana jumlah nutrien kadang-kadang terbatas. Adaptasi terhadap kurangnya nutrien di dalam air laut dapat menyebabkan kondisi pleomorfisme pada bakteri laut di dalam kultur. Namun bahwa kultur murni (padat maupun cair) bakteri yang berbentuk normal adalah bentuk

batang, kokus, vibrio, filamen dan spiral. Bentuk pleomorfisme juga dapat terjadi pada bakteri dari habitat lain, tetapi tidak sesering yang terjadi pada bakteri laut (5).

Bakteri laut banyak yang dapat hidup pada temperatur antara  $0^{\circ}\text{C}$  dan  $4^{\circ}\text{C}$ . Namun temperatur pertumbuhan optimum berkisar antara  $18^{\circ}\text{C}$  dan  $22^{\circ}\text{C}$ . Bakteri psikrofilik adalah bakteri yang dapat hidup pada suhu di bawah  $5^{\circ}\text{C}$ . Untuk bakteri psikrofilik fakultatif, dapat tumbuh pada suhu  $0^{\circ}\text{C}$  dengan suhu optimum pertumbuhan pada  $20^{\circ}\text{C}$  (5).

Pertumbuhan dan reproduksi dari mikroorganisme banyak dipengaruhi oleh konsentrasi ion hidrogen. Pada umumnya bakteri dapat tumbuh pada pH 4 – 9. Namun ada bakteri yang dapat tumbuh pada pH 3 atau lebih rendah lagi. Mikroorganisme laut memiliki pH optimum 7,2 – 7,6 sedangkan pH optimum bakteri akuatik lainnya adalah antara 6,5 – 8,5. Pada daerah permukaan laut pH berkisar 8,2 (5,14). Sedangkan pada sedimen laut memiliki pH antara 6,4 – 9,5 (6).

Anggota dari jenis *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Spirillum*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium* dan *Bacillus* secara luas tersebar di dalam lautan. Semua jenis ini memiliki sejumlah individu yang berperan penting dalam membersihkan air di darat dari pencemaran begitu pula di dalam laut (5).

#### **II.4 Mikroorganisme Pendegradasi Hidrokarbon**

Biodegradasi dapat diidentifikasi sebagai dekomposisi suatu substansi atau bahan organik secara terus-menerus melalui kegiatan agen biologi khususnya

mikroorganisme. Dikenal adanya mikroba yang dapat memanfaatkan hidrokarbon yang terdapat di dalam minyak mentah sebagai sumber karbon. Metabolisme dari hidrokarbon minyak mentah oleh bakteri menghasilkan bentuk karbondioksida dan air (16).

Kelompok mikroorganisme yang mampu mendegradasi hidrokarbon petroleum dan menggunakan hidrokarbon tersebut sebagai satu-satunya sumber karbon disebut mikroorganisme hidrokarbonoklast. Bakteri dan fungi merupakan kelompok mikroorganisme hidrokarbonoklast terbesar. Bakteri dan fungi yang mendegradasi hidrokarbon tersebar luas di dalam habitat laut, air tawar dan tanah. Kehadiran mikroba pengguna hidrokarbon berhubungan erat dengan adanya hidrokarbon di dalam lingkungan. Bakteri dan jamur nampak dominan sebagai pendegradasi hidrokarbon di dalam ekosistem akuatik. Di dalam lingkungan laut, umumnya bakteri dianggap sebagai wakil utama dari komunitas mikroba yang mampu mendegradasi hidrokarbon. Di dalam tanah, bakteri, cendawan bentuk filamen nampak juga sebagai pendegradasi hidrokarbon yang penting (1,4).

Lebih dari 100 individu yang mewakili 30 jenis mikroba telah menunjukkan kemampuan menggunakan hidrokarbon. Di antaranya ada 22 jenis dari bakteri dan 14 jenis dari fungi yang tergolong hidrokarbonoklast. Sedangkan di dalam lingkungan akuatik, jenis yang penting pengguna hidrokarbon yang sering diisolasi yaitu: *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Nocardia*, *Vibrio*, *Acinetobacter*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Candida*, *Rhodotorula* dan *Sporobolomyces* (4).

Umumnya jumlah bakteri pendegradasi petroleum biasanya lebih besar pada daerah yang terpolusi daripada daerah yang tidak terpolusi. Komunitas mikroba pendegradasi hidrokarbon tergantung pada komunitas dan adaptasinya terhadap adanya hidrokarbon (1).

Dari hasil penelitian beberapa ahli bahwa bakteri pendegradasi hidrokarbon memperlihatkan bentuk morfologi dan keadaan fisiologi yang berbeda-beda. Misalnya, Ronald dan Richard dalam penelitiannya menggunakan 2 jenis bakteri yaitu: *Flavobacterium sp.* yang dapat mendegradasi n-heksadekana merupakan bakteri Gram negatif, batang pendek, non motil dan non fermentatif. *Brevibacterium sp.* yang tumbuh baik pada berbagai campuran hidrokarbon merupakan bakteri Gram positif, non motil dan non fermentatif (6).

## **II.5 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Biodegradasi Hidrokarbon**

Biodegradasi hidrokarbon di dalam lingkungan sebagian besar dikontrol oleh faktor-faktor abiotik. Secara umum faktor tersebut mempengaruhi kecepatan pertumbuhan mikroba, dan selanjutnya berpengaruh terhadap aktivitas enzim yang menentukan kecepatan biodegradasi hidrokarbon. Ketahanan polutan petroleum di dalam ekosistem tergantung pada kualitas dan kuantitas dari campuran hidrokarbon yang dikandung dan sifat-sifat dari ekosistem (4).

#### a. Keadaan Fisik Hidrokarbon

Keadaan fisik hidrokarbon dapat memberikan efek terhadap biodegradasinya. Hidrokarbon rendah dapat larut di dalam air. Namun pada peristiwa tumpahnya minyak mentah yang banyak melepaskan hidrokarbon, ada yang larut dan ada pula yang sukar larut dalam air (4).

#### b. Komposisi Kimia Hidrokarbon

Pada tiap golongan hidrokarbon, metabolisme mikroba terjadi melalui jalur karakteristik yang berbeda dan khas bagi tiap golongan hidrokarbon. Hal ini disebabkan karena hidrokarbon terdiri dari senyawa yang berbeda pula (4).

Golongan hidrokarbon alifatik atau n-alkana lebih cepat diasimilasi oleh berbagai bakteri dan jamur. Sedangkan golongan hidrokarbon alisiklik dan aromatik atau poliaromatik hidrokarbon bersifat toksik dan resisten terhadap mikroba (17).

Golongan hidrokarbon aromatik juga resisten terhadap serangan mikroba dan bersifat toksik serta mengalami degradasi melalui pemutusan cincin. Sedangkan golongan hidrokarbon poliaromatik merupakan golongan hidrokarbon yang paling resisten terhadap serangan mikroba dibandingkan dengan golongan hidrokarbon lainnya (17).

#### c. Konsentrasi Hidrokarbon

Tumpahan minyak mentah di dalam air cenderung menyebar dan membentuk lapisan tipis (4). Konsentrasi minyak mentah yang tinggi mempunyai efek negatif terhadap kecepatan biodegradasi. Apabila kondisi tersebut terjadi pada lingkungan berenergi rendah seperti pantai, pelabuhan dan danau kecil berakibat



melindungi minyak dari pengaruh angin dan gelombang untuk menyebar. Kecepatan degradasi minyak mentah yang tertumpah dari tanker minyak yang terjadi pada teluk yang terlindungi lebih rendah dibandingkan dengan yang terjadi pada daerah yang bergelombang besar (1).

#### d. Salinitas

Aktivitas biodegradasi minyak mentah mempunyai korelasi negatif terhadap salinitas yaitu aktivitasnya lebih rendah jika salinitas meningkat. Kecepatan metabolisme beberapa hidrokarbon pada perairan laut akan menurun dengan meningkatnya salinitas (1).

#### e. Temperatur

Temperatur berpengaruh terhadap sifat fisik dari komposisi kimia minyak, kecepatan metabolisme mikroorganisme dan keadaan komunitas yang pada gilirannya mempengaruhi biodegradasi hidrokarbon. Pada temperatur rendah ketebalan minyak bertambah, sehingga dapat menghambat kegiatan biodegradasi (12).

Kecepatan metabolisme mencapai maksimal pada temperatur sedang terutama dalam kisaran  $30^{\circ}\text{C} - 40^{\circ}\text{C}$ . iklim dan musim dapat menyeleksi mikroorganisme pengguna hidrokarbon. Biodegradasi hidrokarbon dapat terjadi pada kebanyakan ekosistem yang tercemar oleh tumpahan minyak mentah dengan temperatur tertentu (1).

#### f. Tekanan

Tekanan akan mempengaruhi biodegradasi hidrokarbon pada lingkungan laut dalam. Minyak mentah yang masuk atau mencapai lingkungan laut dalam, mengalami degradasi pada kedalaman tertentu oleh populasi mikroba. Sisa fraksi minyak mentah yang sukar terurai akan menetap selama beberapa tahun bahkan berpuluh-puluh tahun (1).

#### g. pH

pH pada perairan laut bukan merupakan penghambat bagi aktivitas biodegradasi. Namun demikian kecepatan biodegradasi lebih tinggi pada kondisi sedikit basa. Menurut Bartha (1986) pH pada lingkungan laut dalam kondisi alkalin memberikan keuntungan pertumbuhan bakteri pendegradasi hidrokarbon (18).

#### h. Oksigen

Langkah awal dalam katabolisme hidrokarbon oleh bakteri dan fungi meliputi oksidasi substrat oleh enzim oksigenase untuk menghasilkan molekul  $O_2$  yang dibutuhkan. Kondisi seperti ini dikenal dengan biodegradasi secara aerobik. Umumnya sedimen akuatik ketersediaan akan  $O_2$  terbatas sehingga oksidasi hidrokarbon di dalam sedimen kadang-kadang berjalan lambat, namun oleh adanya komunitas mikroba yang terdapat di dalam sedimen degradasi hidrokarbon dapat berlangsung secara anaerobik (4).



#### i. Nutrien

Hidrokarbon yang terdapat di dalam ekosistem akuatik yang mengandung anorganik rendah memiliki perbandingan yang tinggi antara karbon: nitrogen atau karbon: fosfor. Bahwa kondisi tersebut dapat menghambat pertumbuhan mikroba (4, 15). Pengaturan perbandingan karbon/nitrogen/fosfor melalui penambahan nitrogen dan fosfor akan dapat menstimulasi biodegradasi minyak mentah dan hidrokarbon yang terdapat di dalam air laut (1).

**BAB III**  
**ALAT, BAHAN DAN METODE KERJA**

**III. 1 Alat**

**III.1.1 Peralatan untuk Analisa Mikrobiologi**

- Spektrofotometer
- Lemari penderam (Inkubator)
- Lemari pendingin (Freezer)
- Lemari sterilisasi (Oven)
- Otoklaf
- Alat pengocok (Shaker)
- Timbangan
- Mikroskop
- Tabung reaksi
- Erlenmeyer
- Gelas piala
- Batang pengaduk
- Pipet volume
- Ose (bulat dan lurus)
- Kompor listrik
- Spoit
- Objek gelas
- Aluminium foil
- Kapas
- Kertas label
- Kertas keli
- Kain kasa
- Karet gelang
- Tisu rol
- Enkas
- Cawan petri
- Gelas ukur
- Corong
- Pipet ukur
- Jarum preparat
- Botol penicilin
- pH meter
- Lampu spirtus
- Dek gelas

### **III.1.2 Peralatan untuk Analisa Kimia**

#### **III.1.2.1 Peralatan untuk Analisa Biodegradasi Secara Kuantitatif**

- Gelas ukur
- Corong kaca
- Pipet tetes
- Erlenmeyer
- Corong pisah
- Pompa vakum
- Kondensor spiral
- Gelas piala
- Pipet ukur
- Batang pengaduk
- Rotavapor buchii R-144
- Corong buchner
- Suction
- Elektromantel

#### **III.1.2.2 Peralatan untuk Analisa Biodegradasi Kualitatif**

- Erlenmeyer
- Pipet ukur
- Statip
- Seperangkat alat kromatografi gas
- Pinset
- Rotavapor buchii R-144
- Gelas ukur

### **III.2 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan adalah:

1. Akuades
2. Alkohol
3. Gram A (Amonium Oxalat Crystal violet)
4. Gram B (Larutan lugol)
5. Gram C (Larutan pencuci)

6. Gram D (Larutan Safranin)

7. Medium yang digunakan adalah:

- Air Laut Sintetik (ALS)
- Medium Kompleks (Padat)
- Medium Kompleks (Cair)
- Medium Minima
- Petroleum

8. Nutrien untuk pertumbuhan adalah:

- Larutan  $K_2HPO_4$
- Larutan  $FeSO_4$

9. Zat-zat kimia yang digunakan adalah:

- NaOH 10 N
- Kloroform ( $CHCl_3$ )
- $CaCl_2 \cdot 2H_2O$
- Silika gel 70 – 230 Mesh
- HCl 10 N
- KOH
- $H_2SO_4$
- $FeSO_4$
- Tris (Hydroximetil-aminomethana) ( $C_4H_{11}NO_3$ )
- Substrat: Petroleum jenis Handil
- Metanol ( $CH_3OH$ )
- NaCl
- $MgCl_2$
- n-Hexana ( $C_6H_{14}$ )
- $K_2HPO_4$
- KCl
- $MgSO_4$
- $NH_4Cl$

### III.3 Metode Kerja

#### III.3.1 Sterilisasi Alat

Beberapa alat dan bahan-bahan tertentu yang akan digunakan dalam penelitian, terlebih dahulu disterilkan agar bebas dari berbagai macam mikroorganisme.

Alat-alat yang terbuat dari gelas atau kaca disterilkan dengan menggunakan oven pada suhu  $180^{\circ}\text{C}$  selama 2 jam pada tekanan 2 atm. Sedangkan alat yang terbuat dari logam, seperti ose disterilkan dengan dicuci alkohol dan dipijarkan langsung dengan api hingga berwarna merah. Sterilisasi medium dilakukan dengan menggunakan otoklaf pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 20 menit pada tekanan 2 atm

#### III.3.2 Pembuatan Medium

##### 1. Pembuatan Air Laut Sintetik (ALS)

Untuk 1 liter ALS dengan salinitas mendekati perairan Indonesia, komposisinya sebagai berikut (19):

- Tris (Hydroksimetil-aminomethane)	6,05 gr
- NaCl	23,00 gr
- KCl	0,75 gr
- MgSO <sub>4</sub>	3,91 gr
- MgCl <sub>2</sub>	5,08 gr
- CaCl <sub>2</sub> -2H <sub>2</sub> O	1,47 gr
- NH <sub>4</sub> Cl	3,74 gr
- Aquades	1000 ml

Bahan-bahan ditimbang sebanyak yang diperlukan kemudian dilarutkan ke dalam 1000 ml aquades. Selanjutnya pH-nya diatur sampai 7,8 dengan menambahkan HCl 10 N.

## 2. Pembuatan Medium Kompleks (Padat)

Bahan-bahan yang dipergunakan adalah:

- Air Laut Sintetik (ALS)	1000 ml
- Bactopepton	5 gr
- Yeast ekstrak	5 gr
- Agar	20 gr

Bahan-bahan ditimbang sebanyak yang diperlukan kemudian dilarutkan dalam 1000 ml ALS. Selanjutnya dimasukkan dalam erlenmeyer dan disterilkan dalam otoklaf selama 20 menit pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  pada tekanan 2 atm.

## 3. Pembuatan Medium Komplek (Cair)

Bahan-bahan yang dipergunakan adalah:

- Air Laut Sintetik (ALS)	1000 ml
- Yeast ekstrak	5 gr
- Bactopepton	5 gr

Bahan-bahan ditimbang sebanyak yang diperlukan kemudian dilarutkan dalam 1000 ml ALS. Selanjutnya dimasukkan dalam erlenmeyer dan disterilkan dalam otoklaf selama 20 menit pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  pada tekanan 2 atm.

#### 4. Pembuatan Medium Minima

Bahan-bahan yang digunakan adalah:

- |                           |         |
|---------------------------|---------|
| - Air Laut Sintetik (ALS) | 1000 ml |
| - Petroleum jenis Handil  | 1 gr    |

1000 ml ALS dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml dan ditambahkan dengan 1 gr petroleum. Selanjutnya disterilkan pada temperatur  $121^{\circ}\text{C}$  pada tekanan 2 atm.

#### III.3.3 Pembuatan Sumber Nutrien

##### 1. Larutan $\text{FeSO}_4$

Bahan-bahan yang digunakan adalah:

- |                   |         |
|-------------------|---------|
| - $\text{FeSO}_4$ | 2,78 gr |
| - Aquades         | 1000 ml |

$\text{FeSO}_4$  ditimbang sebanyak yang diperlukan kemudian dilarutkan ke dalam 1000 ml aquades, kemudian disterilkan dalam otoklaf pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  dengan tekanan 2 atm.

##### 2. Pembuatan Larutan $\text{K}_2\text{HPO}_4$

Bahan-bahan yang dipergunakan adalah:

- |                            |          |
|----------------------------|----------|
| - $\text{K}_2\text{HPO}_4$ | 0,036 gr |
| - Aquades                  | 1000 ml  |



$K_2HPO_4$  ditimbang sebanyak yang diperlukan kemudian dilarutkan ke dalam 1000 ml aquades, kemudian disterilkan dalam otoklaf pada suhu  $121^{\circ}C$  dengan tekanan 2 atm.

### III.3.4 Pembuatan Zat Warna (19,20)

#### 1. Gram A (Amonium Oxalat Crystal Violet)

Bahan-bahan yang digunakan adalah:

- Kristal violet	200 mg
- Amonium oxalat	80 mg
- Alkohol 96 %	2 ml
- Aquades	100 ml

Kristal violet dilarutkan dengan alkohol dan amonium oksalat dilarutkan dengan aquades, selanjutnya kedua larutan tersebut dicampur dan dimasukkan dalam botol yang tertutup baik.

#### 2. Gram B (Larutan Lugol)

Bahan-bahan yang digunakan adalah:

- Iodium	300 mg
- Kalium Iodida	700 mg
- Aquades	100 ml

Kalium Iodida dilarutkan dengan aquades secukupnya di dalam lumpang. Kemudian Iodium dimasukkan dan digerus sampai larut. Setelah itu diencerkan



dengan sisa aquades sampai 100 ml. Selanjutnya dimasukkan dalam botol yang tertutup baik.

### **3. Gram C (Larutan Pencuci)**

Bahan-bahan yang digunakan adalah:

- |                |       |
|----------------|-------|
| - HCl pekat    | 3 ml  |
| - Alkohol 96 % | 10 ml |

Hidrogen Klorida (HCl) pekat dicampur dengan alkohol 96 % kemudian dimasukkan ke dalam botol yang tertutup baik.

### **4. Gram D (Larutan Safranin)**

Bahan-bahan yang digunakan adalah:

- |                |        |
|----------------|--------|
| - Safranin     | 250 ml |
| - Alkohol 96 % | 10 ml  |
| - Aquades      | 100 ml |

Safranin dilarutkan dengan alkohol 96 %, kemudian ditambahkan aquades dan selanjutnya dimasukkan dalam botol yang tertutup baik

### **III.3.5 Peremajaan Isolat Bakteri**

Isolat bakteri laut yang digunakan dalam penelitian ini telah diisolasi dari perairan Pare-Pare oleh Sopacua, EI (22), kemudian isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian ini diremajakan dengan menumbuhkannya pada media kompleks cair dan padat.

Ada 8 isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian ini, yang disimbolkan sebagai berikut:

- I<sub>1</sub>: Diisolasi dari sampel Air, berwarna Putih susu, Gram negatif
- I<sub>2</sub>: Diisolasi dari sampel Sedimen, berwarna Putih susu, Gram positif
- I<sub>3</sub>: Diisolasi dari sampel Air, berwarna Orange, Gram negatif
- I<sub>4</sub>: Diisolasi dari sampel Air, berwarna Orange, Gram positif
- I<sub>5</sub>: Diisolasi dari sampel Air, berwarna Orange, Gram negatif
- I<sub>6</sub>: Diisolasi dari sampel Air, berwarna Kuning, Gram negatif
- I<sub>7</sub>: Diisolasi dari sampel Sedimen, berwarna Putih susu, Gram negatif
- I<sub>8</sub>: Diisolasi dari sampel Sedimen, berwarna Orange, Gram negatif

### **III. 3.6 Pengecatan Bakteri**

Gelas objek dibersihkan dengan alkohol kemudian dipanaskan di atas lampu spiritus. Diambil biakan murni kemudian dibuat preparat ulas di atas objek gelas, difiksasi di atas api. Selanjutnya diberi larutan kristal violet selama 1 menit, dicuci dengan air mengalir. Kemudian diberi larutan lugol selama 1 menit, dicuci dengan air. Kemudian diberi larutan pemucat selama 30 detik, dicuci dengan air. Selanjutnya diberi larutan safranin selama 2 menit, dicuci dengan air dan dikeringkan dengan kertas saring. Kemudian diperiksa dengan mikroskop 100 x.

### **III. 3.7 Penanaman untuk Prakultur**

1 ml petroleum dimasukkan dalam erlenmeyer 250 ml berisi 100 ml ALS steril. Kemudian ditambahkan larutan 0,4 ml  $K_2HPO_4$  dan 0,2 ml larutan  $FeSO_4$  lalu diinokulasikan 1 ml isolat bakteri yang telah diremajakan dan diinkubasi pada suhu  $30 - 32^{\circ}C$ , dan dikocok.

### **III.3.8 Penanaman untuk Kultur**

Selanjutnya dengan menggunakan 2 buah erlenmeyer dilanjutkan pembuatan kultur untuk menguji biodegradasi dan uji pertumbuhan.

Untuk uji kapasitas biodegradasi yaitu ke dalam erlenmeyer 250 ml yang berisi 25 ml media minima ditambahkan larutan  $K_2HPO_4$  0,4 ml dan larutan  $FeSO_4$  0,2 ml. Selanjutnya diinokulasikan 1- 2 ml kultur bakteri yang telah tumbuh pada tahap prakultur. Untuk uji pertumbuhan dibuat juga kultur dalam erlenmeyer 500 ml yang berisi 200 ml media minima kemudian ditambahkan larutan  $K_2HPO_4$  0,4 ml dan larutan  $FeSO_4$  0,2 ml, kemudian diinokulasikan 1-2 ml kultur bakteri. Kemudian keduanya diinkubasi selama 15 hari.

### **III. 3.9 Pengamatan Pertumbuhan**

Pengamatan pertumbuhan bakteri dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometer pada panjang gelombang 610 nm. Pengukuran absorbansi ini dilakukan hingga diperkirakan substrat telah mulai menipis, hingga terlihat adanya pengurangan petroleum lebih dari 60 %.

### III.3.10 Analisa Efektifitas Biodegradasi Petroleum secara Kuantitatif

- Sampel kultur (25 ml) yang telah diinkubasi selama 15 hari disiapkan.
- Sampel ditambahkan dengan  $\text{CHCl}_3$  dan Metanol serta KOH 0,5 N sebanyak 50 ml.
- Kemudian sampel direflux selama kira-kira 4 – 5 jam.
- Sampel yang telah direflux disaring dengan menggunakan corong Buchner.
- Selanjutnya filtrat dipisahkan dengan corong pisah sebanyak 3 kali, pada penyaringan kedua dan ketiga ditambahkan kloroform sebanyak 10 ml.
- Filtrat ditambahkan dengan  $\text{MgSO}_4$  dan disimpan selama 1 malam.
- Filtrat dievaporasi dengan rotavapor hingga kering lalu ditimbang beratnya
- Persentase biodegradasi hidrokarbon dihitung dengan menggunakan rumus:  $\% B = \frac{B_0 - (K_1 - K_2) - B_2}{B_0} \times 100 \%$

Keterangan:  $B_0$  = Berat awal petroleum (gram)

$B_2$  = Berat akhir petroleum (gram)

$K_1$  = Berat awal kontrol (gram)

$K_2$  = Berat akhir kontrol (gram)

### **III.3.11 Analisa Biodegradasi Hidrokarbon secara Kualitatif**

- Hasil evaporasi ekstrak dilewatkan pada kromatografi kolom dengan silika gel 70 – 230 Mesh
- Eluen yang dipakai adalah n-hexana sebanyak 50 ml, lalu dievaporasi hingga kering
- Beratnya kemudian ditimbang, lalu dilarutkan dalam n-alkana. Kemudian diinjeksikan ke dalam alat kromatografi yang telah diprogram
- Hasil kromatogramnya kemudian dibandingkan dengan kromatogram kontrol.

### **III.3.12 Analisa Data**

- Nilai absorpsi dari hasil pengukuran pertumbuhan dengan menggunakan spektrofotometer diplot pada kertas semilogaritma dalam bentuk kurva pertumbuhan.
- Nilai prosentase biodegradasi secara kuantitatif diperoleh dengan cara menghitung berat hidrokarbon yang diperoleh dari hasil pengurangan substrat pada awal inkubasi dan setelah akhir inkubasi.
- Nilai kapasitas biodegradasi secara kualitatif diperoleh dengan cara sebagai berikut; kromatogram dari fraksi sampel yang telah diinjeksi ke dalam kromatografi fase gas dikorelasikan dengan kromatogram fraksi kontrol yang juga telah diinjeksi ke dalam kromatogram fase gas.

Selanjutnya dapat diamati pemutusan rantai karbon yang terjadi selama pertumbuhan isolat pada substrat hidrokarbon yang diberikan.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### IV.1 Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon

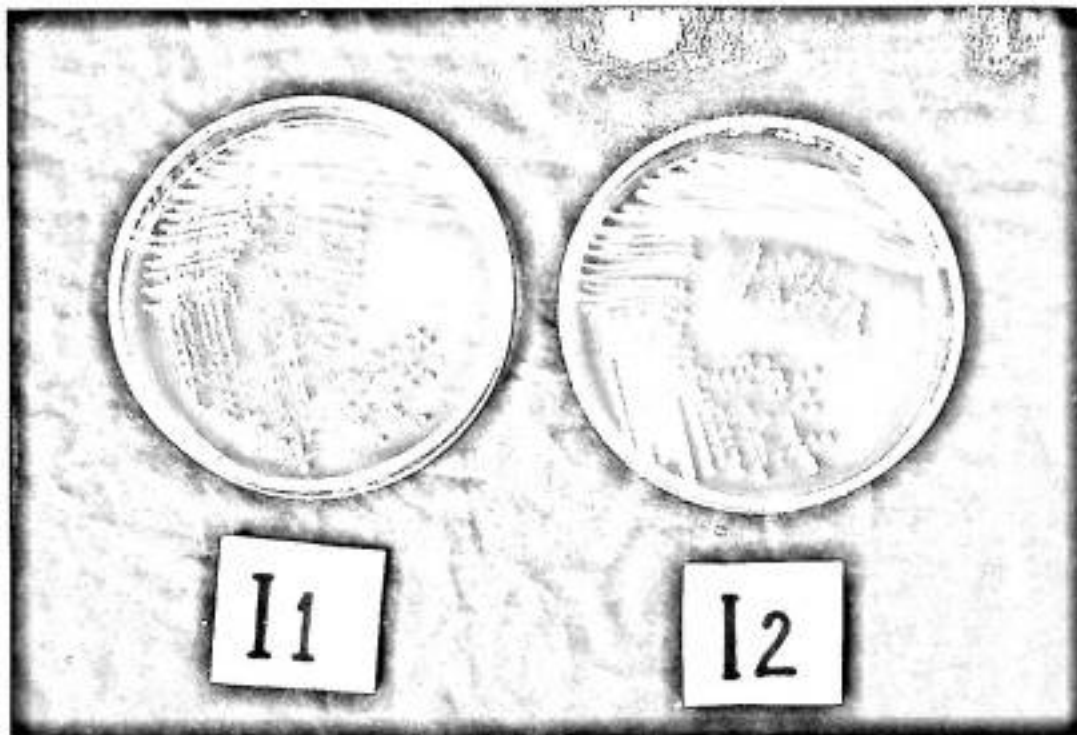
Pada penelitian ini digunakan isolat bakteri yang telah diisolasi dari laut yang telah tercemar oleh hidrokarbon (22). Isolat bakteri ini diremajakan kembali dengan menumbuhkannya pada medium kompleks cair dan padat, sehingga dihasilkan isolat bakteri sebagai biakan murni. Untuk memperoleh biakan bakteri yang benar-benar memiliki kapasitas menguraikan hidrokarbon maka terlebih dahulu dilakukan pengujian pada medium yang terkondisikan seperti dengan kondisi air laut. Kemudian dari beberapa isolat bakteri tersebut dipilih delapan isolat bakteri yang menampakkan pertumbuhan yang baik pada petroleum yang dicobakan. Pemilihan ini berdasarkan atas hasil pengamatan secara visual yaitu perubahan warna kultur dan kondisi substrat petroleum selama waktu inkubasi

Selanjutnya dilakukan pengujian Gram untuk membedakan antara bakteri Gram negatif dan bakteri Gram positif. Dari hasil pengujian Gram dan pengamatan morfologi secara mikroskopis dari delapan isolat bakteri tersebut ternyata hanya ada dua isolat bakteri yang bersifat Gram positif yaitu dengan simbol I<sub>2</sub> dan I<sub>4</sub>. Bentuk sel dari isolat bakteri baik bakteri yang bersifat Gram positif maupun yang bersifat negatif, sama-sama memiliki bentuk batang.

Adapun pengamatan morfologi secara makroskopis dari isolat yang digunakan adalah seperti pada Tabel. 1.

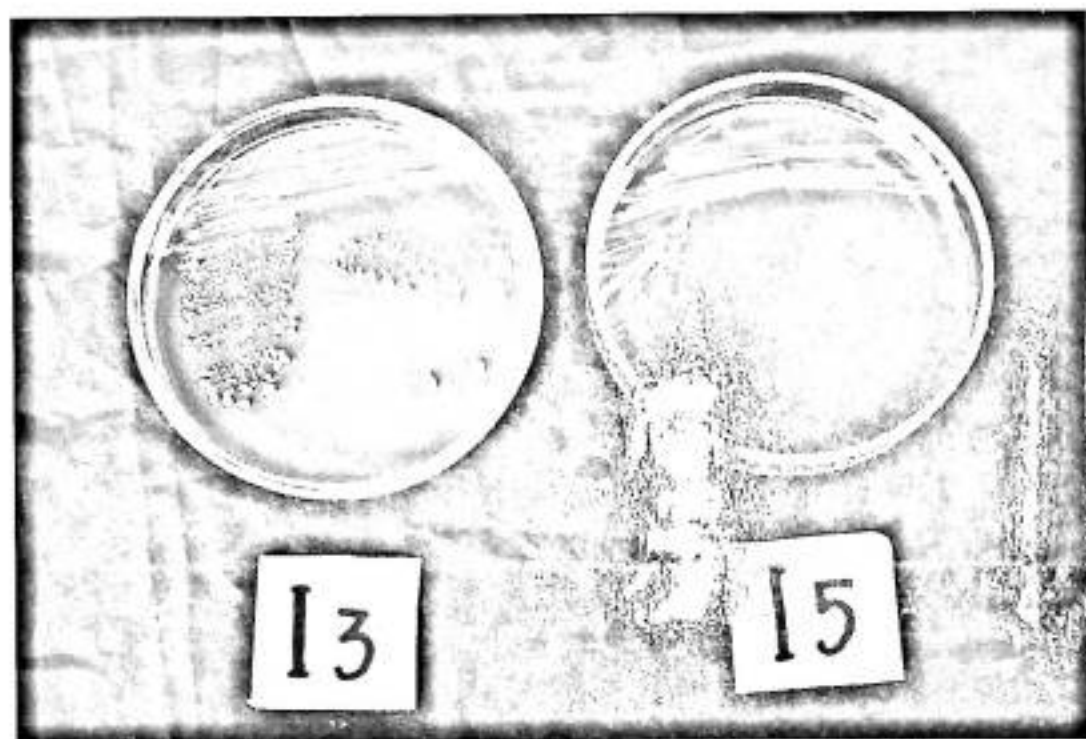
Tabel 1. Pengamatan Morfologi koloni dari Isolat Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon

Isolat	Pengamatan			
	Elevasi	Tepi	Bentuk	Warna
I <sub>1</sub>	Membukit	Berombak	Bulat	Putih susu
I <sub>2</sub>	Membukit	Berombak	Bulat	Putih susu
I <sub>3</sub>	Timbul-datar	Berombak	Tidak teratur	Orange
I <sub>4</sub>	Cembung	Berombak	Tidak teratur	Orange
I <sub>5</sub>	Cembung	Berombak	Bulat	Orange
I <sub>6</sub>	Cembung	Rata/Utuh	Bulat	Kuning
I <sub>7</sub>	Cembung	Berombak	Bulat	Putih susu
I <sub>8</sub>	Cembung	Rata/Utuh	Bulat	Orange

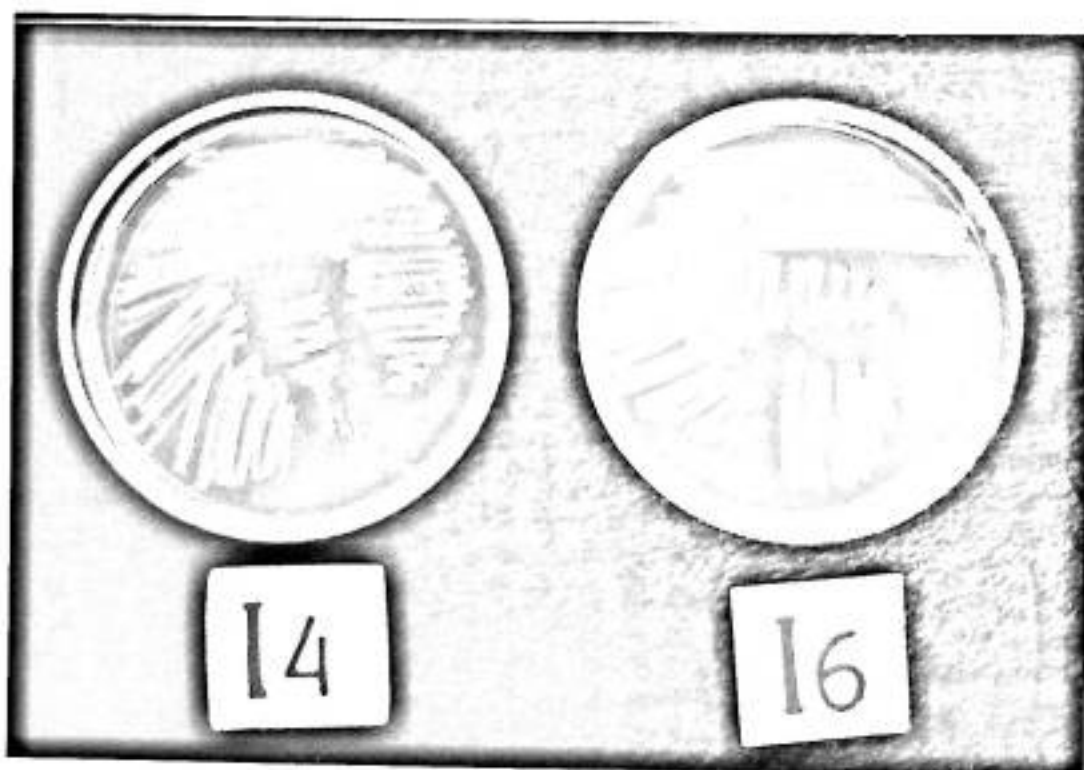


Gambar 1. Koloni Bakteri Isolat I<sub>1</sub> dan I<sub>2</sub>

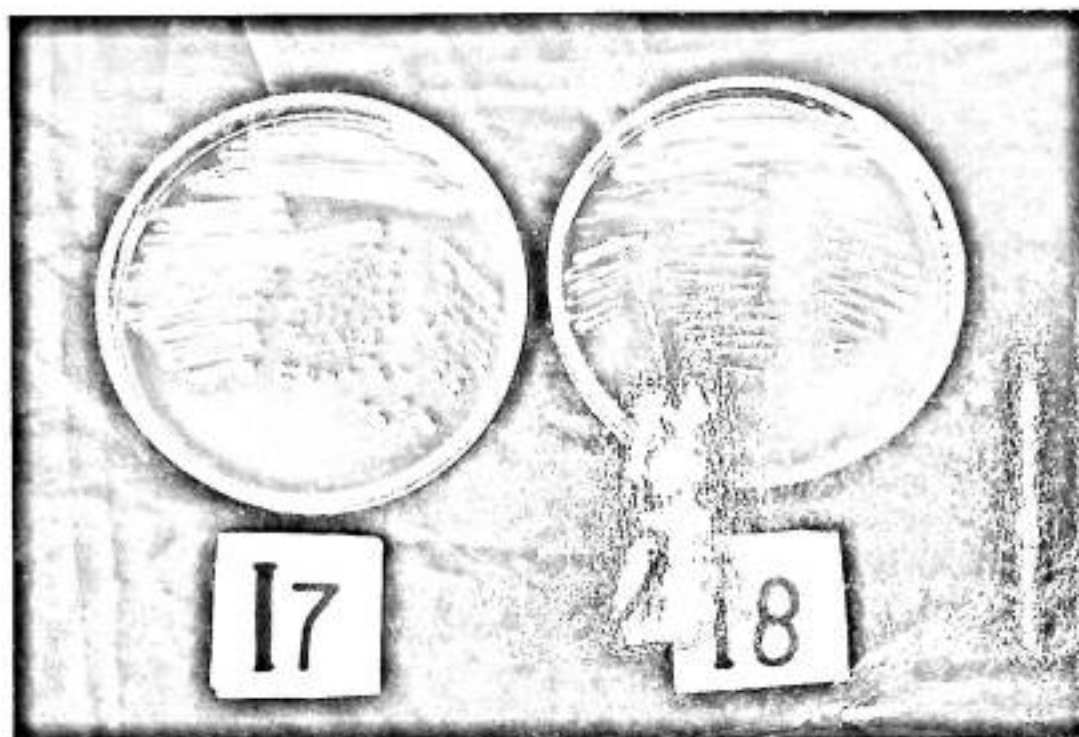




Gambar 2. Koloni Bakteri Isolat I<sub>3</sub> dan I<sub>5</sub>



Gambar 3. Koloni Bakteri Isolat I<sub>4</sub> dan I<sub>6</sub>



Gambar 1. Koloni Bakteri Isolat I<sub>7</sub> dan I<sub>8</sub>

Pengujian pertumbuhan delapan isolat bakteri pendegradasi hidrokarbon ini dilakukan melalui dua tahap yaitu tahap prakultur dan tahap kultur.

#### IV.1.1 Tahap Prakultur

Tahap prakultur dimaksudkan sebagai tahap adaptasi bakteri pada substrat hidrokarbon untuk kemudian diuji lanjut pada tahap kultur

Dalam tahap ini, bakteri dibiakkan dalam media Air Laut Sintetik (ALS) yang ditambahkan dengan  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  dan juga Petroleum. Penambahan beberapa unsur dalam media ALS ini, dimaksudkan agar bakteri pendegradasi hidrokarbon ini benar-benar hidup dalam kondisi air laut serta mampu mendegradasi hidrokarbon (petroleum). Karena petroleum ini merupakan satu-satunya sumber karbon dan

energi sedangkan larutan  $\text{Fe}^{2+}$  dan larutan  $\text{P.O}_4^{3-}$  sebagai sumber nutrisi yang mendukung pertumbuhan bakteri tersebut.

Pada tahap ini, inkubasi dilakukan selama 6 – 8 hari sambil dikocok menggunakan “Shaker”, agar dalam media terjadi aerasi dan petroleum merata untuk setiap bakteri yang ada.

Perubahan warna yang terjadi dari bening menjadi keruh dalam tahap ini, membuktikan bahwa bakteri tumbuh baik dan mampu menggunakan petroleum sebagai sumber karbonnya atau mampu mendegradasi hidrokarbon tersebut

#### **IV.1.2 Tahap Kultur**

Inokulum bakteri yang diperoleh dari tahap prakultur, diinokulasikan ke dalam medium yang sama. Pada tahap ini dibuat 2 buah kultur untuk tujuan pengamatan pertumbuhan dan pengujian kapasitas biodegradasi.

Pada tahap ini dilakukan pengamatan berupa perubahan warna kultur murni dan kondisi substrat petroleum selama waktu inkubasi. Pengukuran pertumbuhan dilakukan dengan spektrofotometer pada  $\lambda = 610 \text{ nm}$  dan selanjutnya dibuat kurva pertumbuhannya pada kertas semilogaritma. Dilakukan pula pengamatan secara morfologi koloni bakteri yang telah ditumbuhkan pada medium agar.

### **IV.2 Pertumbuhan Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon**

#### **IV.2.1 Karakteristik Kultur Secara Visual**

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan setelah beberapa hari inkubasi didapatkan pertumbuhan bakteri pada media kultur, bahwa terdapat

perubahan warna kultur dan kondisi fisik substrat. Perubahan ini membuktikan adanya aktifitas pertumbuhan bakteri pada substrat yang diberikan. Hasil pengamatan secara visual perubahan warna kultur murni dan kondisi substrat petroleum selama waktu inkubasi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengamatan secara visual perubahan kultur murni dan kondisi substrat petroleum selama waktu inkubasi pada isolat yang berbeda

Waktu inkubasi (jam)	Isolat	Pengamatan	
		Warna kultur	Kondisi Petroleum
W <sub>0</sub> (0)	I <sub>1</sub>	Bening	100 % petroleum menyebar dipermukaan ALS dan terpisah dengan jelas
	I <sub>2</sub>	Bening	100 % petroleum menyebar dipermukaan ALS dan terpisah dengan jelas
	I <sub>3</sub>	Bening	100 % petroleum menyebar dipermukaan ALS dan terpisah dengan jelas
	I <sub>4</sub>	Bening	100 % petroleum menyebar dipermukaan ALS dan terpisah dengan jelas
	I <sub>5</sub>	Bening	100 % petroleum menyebar dipermukaan ALS dan terpisah dengan jelas
	I <sub>6</sub>	Bening	100 % petroleum menyebar dipermukaan ALS dan terpisah dengan jelas
	I <sub>7</sub>	Bening	100 % petroleum menyebar dipermukaan ALS dan terpisah dengan jelas
	I <sub>8</sub>	Bening	100 % petroleum menyebar dipermukaan ALS dan terpisah dengan jelas
	Kontrol	Bening	100 % petroleum menyebar dipermukaan ALS dan terpisah dengan jelas
W <sub>2</sub> (48)	I <sub>1</sub>	Kuning keruh	Petroleum menyebar di permukaan dan sebagian melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>2</sub>	Kuning keruh	Petroleum menyebar di permukaan dan sebagian melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>3</sub>	Orange keruh	Petroleum sebagian besar melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>4</sub>	Orange keruh	Petroleum sebagian besar melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>5</sub>	Orange keruh	Petroleum sebagian besar melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>6</sub>	Bening	Petroleum menyebar dipermukaan dan sebagian melekat pada dinding tabung erlenmeyer

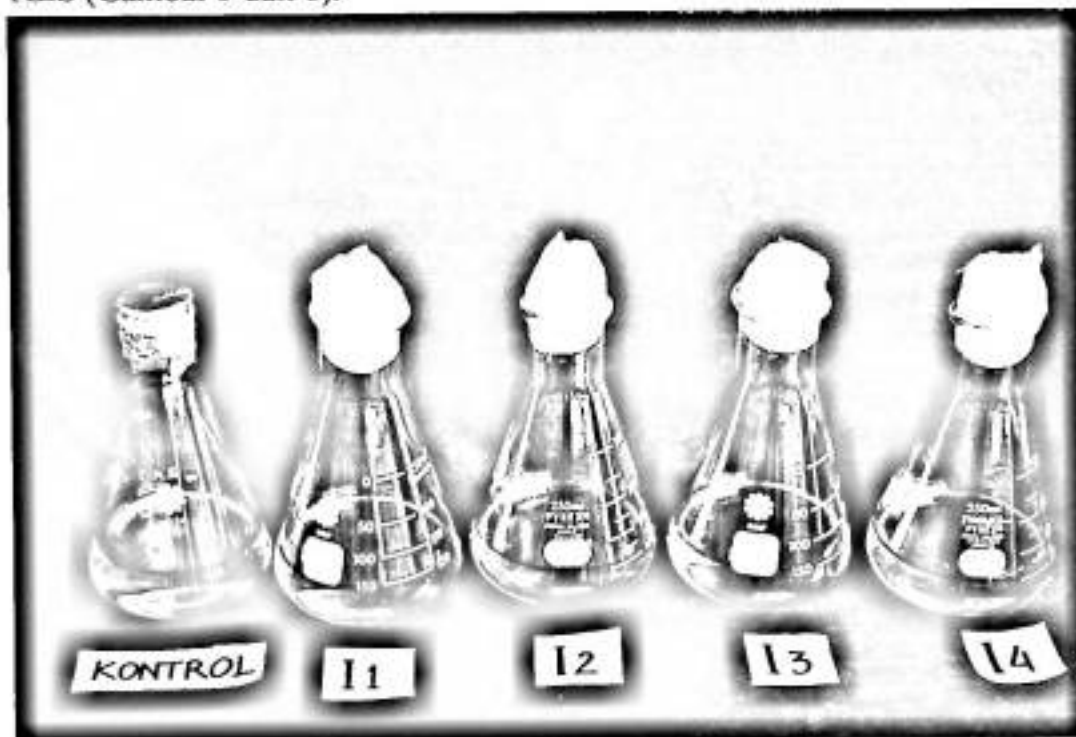
	I <sub>7</sub>	Bening	Petroleum menyebar dipermukaan dan sebagian melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>8</sub>	Coklat keruh	Petroleum menyebar dipermukaan dan sebagian melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	Kontrol	Bening	Petroleum sebagian besar menyebar dipermukaan ALS
W <sub>4</sub> (96)	I <sub>1</sub>	Coklat tua	± 3 % petroleum berkurang, dan sebagian melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>2</sub>	Kuning keruh	± 3 % petroleum berkurang, dan sebagian melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>3</sub>	Coklat kekuningan	± 50 % petroleum berkurang, dan sebagian melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>4</sub>	Coklat keruh	± 40 % petroleum berkurang, dan sebagian melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>5</sub>	Coklat kekuningan	± 50 % petroleum berkurang, dan sebagian melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>6</sub>	Kuning keruh	± 5 % petroleum berkurang, dan sebagian melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>7</sub>	Kuning keruh	± 5 % petroleum berkurang, dan sebagian melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>8</sub>	Coklat keruh	± 10 % petroleum berkurang, dan sebagian melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	Kontrol	Bening	Petroleum sebagian besar menyebar dipermukaan ALS
W <sub>7</sub> (168)	I <sub>1</sub>	Coklat tua	± 5 % petroleum berkurang, dan sebagian besar melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>2</sub>	Kuning keruh	± 15 % petroleum berkurang, dan sebagian besar melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>3</sub>	Orange	± 70 % petroleum berkurang, dan sedikit melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>4</sub>	Coklat susu	± 60 % petroleum berkurang, dan sedikit melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>5</sub>	Orange	± 70 % petroleum berkurang, dan sedikit melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>6</sub>	Kuning keruh	± 10 % petroleum berkurang, dan sebagian besar melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>7</sub>	Kuning keruh	± 10 % petroleum berkurang, dan sebagian melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>8</sub>	Orange	± 20 % petroleum berkurang, dan sebagian besar melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	Kontrol	Bening	Petroleum sebagian besar menyebar dipermukaan ALS
W <sub>9</sub> (216)	I <sub>1</sub>	Coklat tua	± 10 % petroleum berkurang, dan sebagian besar melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>2</sub>	Kuning keruh	± 20 % petroleum berkurang, dan sebagian besar melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>3</sub>	Coklat orange	± 75 % petroleum berkurang, dan sedikit melekat pada dinding tabung erlenmeyer



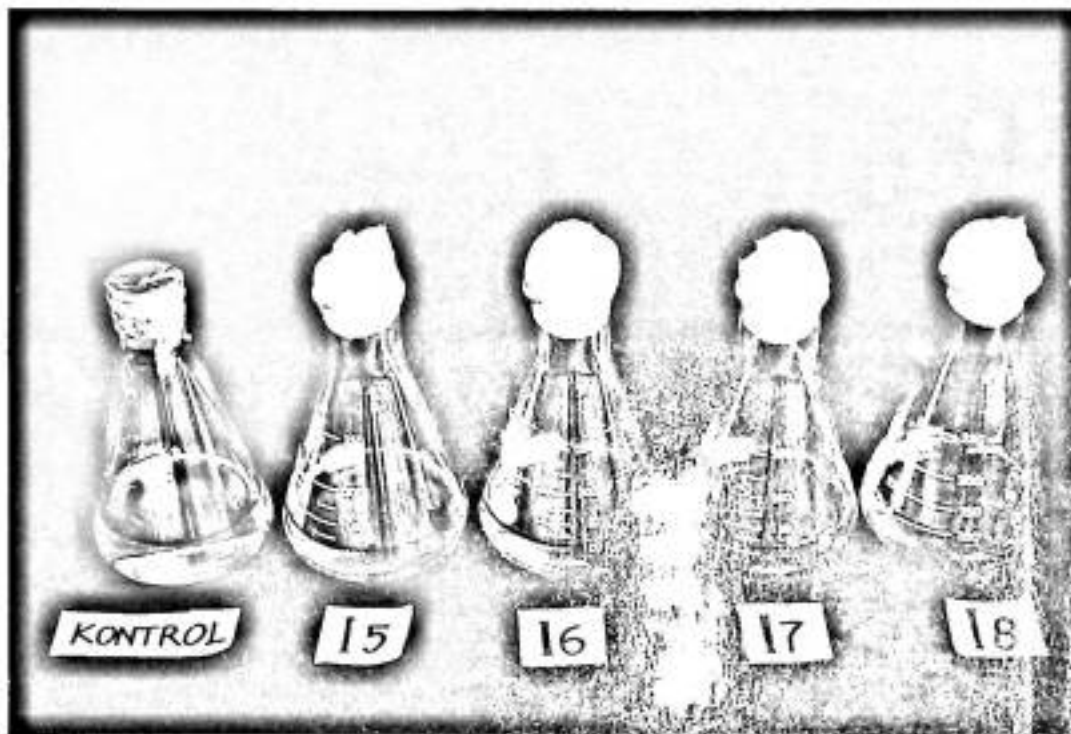
	I <sub>4</sub>	Coklat muda	± 70 % petroleum berkurang, dan sedikit melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>5</sub>	Coklat kemerahan	± 75 % petroleum berkurang, dan sedikit melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>6</sub>	Kuning keruh	± 15 % petroleum berkurang, dan sebagian besar melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>7</sub>	Kuning keruh	± 15 % petroleum berkurang, dan sebagian melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>8</sub>	Coklat kemerahan	± 30 % petroleum berkurang, dan sebagian besar melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	Kontrol	Bening	Petroleum sebagian besar menyebar dipermukaan ALS
W <sub>11</sub> (264)	I <sub>1</sub>	Coklat tua	± 20 % petroleum berkurang, dan sebagian besar melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>2</sub>	Kuning keruh	± 25 % petroleum berkurang, dan sebagian besar melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>3</sub>	Coklat orange	± 80 % petroleum berkurang, dan sedikit melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>4</sub>	Coklat muda	± 75 % petroleum berkurang, dan sedikit melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>5</sub>	Coklat kemerahan	± 80 % petroleum berkurang, dan sedikit melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>6</sub>	Kuning keruh	± 20 % petroleum berkurang, dan sebagian besar melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>7</sub>	Kuning keruh	± 20 % petroleum berkurang, dan sebagian melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>8</sub>	Coklat kemerahan	± 40 % petroleum berkurang, dan sebagian besar melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	Kontrol	Bening	Petroleum sebagian besar menyebar dipermukaan ALS
W <sub>14</sub> (336)	I <sub>1</sub>	Coklat tua	± 30 % petroleum berkurang, dan sedikit melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>2</sub>	Kuning keruh	± 30 % petroleum berkurang, dan sebagian besar melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>3</sub>	Coklat orange	± 80 % petroleum berkurang, dan sedikit sekali melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>4</sub>	Coklat muda	± 75 % petroleum berkurang, dan tidak ada yang melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>5</sub>	Coklat kemerahan	± 80 % petroleum berkurang, dan sedikit sekali melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>6</sub>	Kuning keruh	± 30 % petroleum berkurang, dan sebagian besar melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>7</sub>	Kuning keruh	± 30 % petroleum berkurang, dan sebagian melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	I <sub>8</sub>	Coklat kemerahan	± 50 % petroleum berkurang, dan sedikit melekat pada dinding tabung erlenmeyer
	Kontrol	Bening	Petroleum sebagian besar menyebar dipermukaan ALS

Keterangan: I<sub>1</sub> = Isolat bakteri gram negatif  
I<sub>2</sub> = Isolat bakteri gram positif  
I<sub>3</sub> = Isolat bakteri gram negatif  
I<sub>4</sub> = Isolat bakteri gram positif  
I<sub>5</sub> = Isolat bakteri gram negatif  
I<sub>6</sub> = Isolat bakteri gram negatif  
I<sub>7</sub> = Isolat bakteri gram negatif  
I<sub>8</sub> = Isolat bakteri gram negatif  
K = Kontrol (AL S + Petroleum)

Kemampuan bakteri dalam memanfaatkan sumber karbon yang ada sangat mendukung aktifitas pertumbuhan bakteri pendegradasi hidrokarbon. Hal ini dapat terlihat pada warna dan kondisi substrat petroleum. Secara visual, perubahan warna dari setiap kultur memperlihatkan warna yang berbeda-beda selama inkubasi berlangsung. Pada awal inkubasi warna dari setiap kultur menunjukkan warna yang sama yaitu bening dan petroleum terlihat terpisah dengan jelas di atas permukaan ALS (Gambar 5 dan 6).



Gambar 5. Warna dan kondisi substrat petroleum kultur isolat pada awal inkubasi



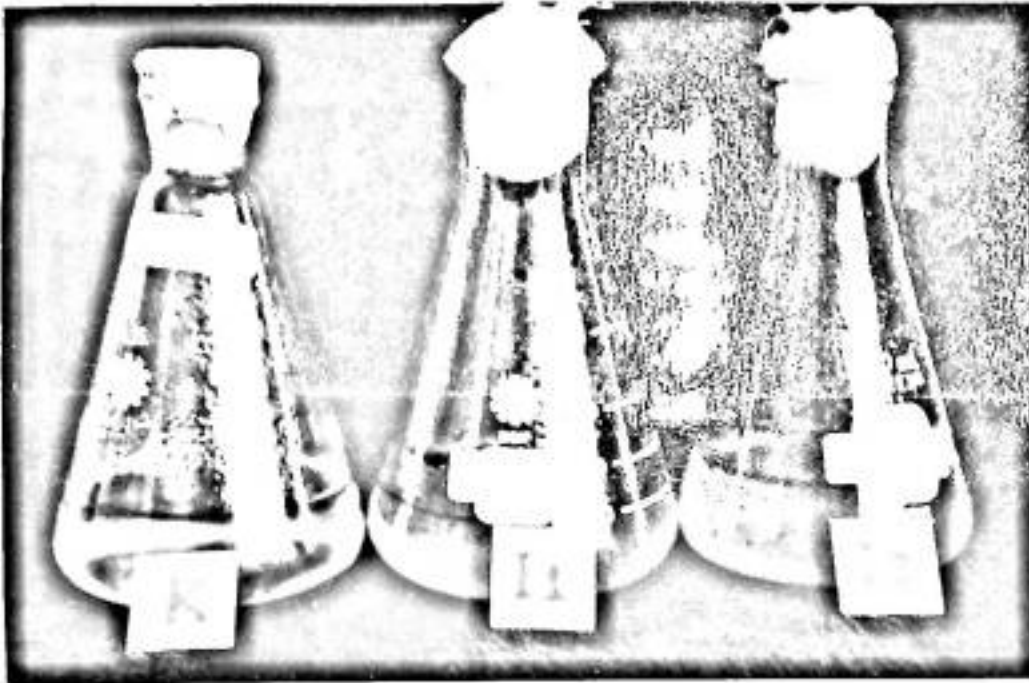
Gambar 6. Warna dan kondisi substrat petroleum kultur isolat pada awal inkubasi

Disamping itu, pada awal pertumbuhan ( 1 – 2 x 24 jam ) kondisi sebagian petroleum telah melekat pada dinding tabung erlenmeyer dan sebagian lagi menyebar rata pada permukaan substrat dan juga terlihat warna kultur yang semula bening berubah menjadi keruh, selanjutnya kuantitas petroleum semakin berkurang sedikit demi sedikit hingga sampai pada akhir inkubasi. Adapun pengurangan dari petroleum yang terjadi pada setiap isolat tidak dapat diukur secara pasti pada setiap pengamatan visual yang dilakukan, sehingga nilai yang tercantum dalam tabel adalah perkiraan dalam prosentase.

Disamping adanya pengurangan jumlah petroleum, terlihat juga perubahan dari kondisi fisik petroleum pada setiap kultur. Pada dinding erlenmeyer dari semua kultur terdapat petroleum yang melekat. Namun selanjutnya, sedikit demi sedikit petroleum tersebut akan berkurang pada akhir inkubasi, pada umumnya terlihat hanya



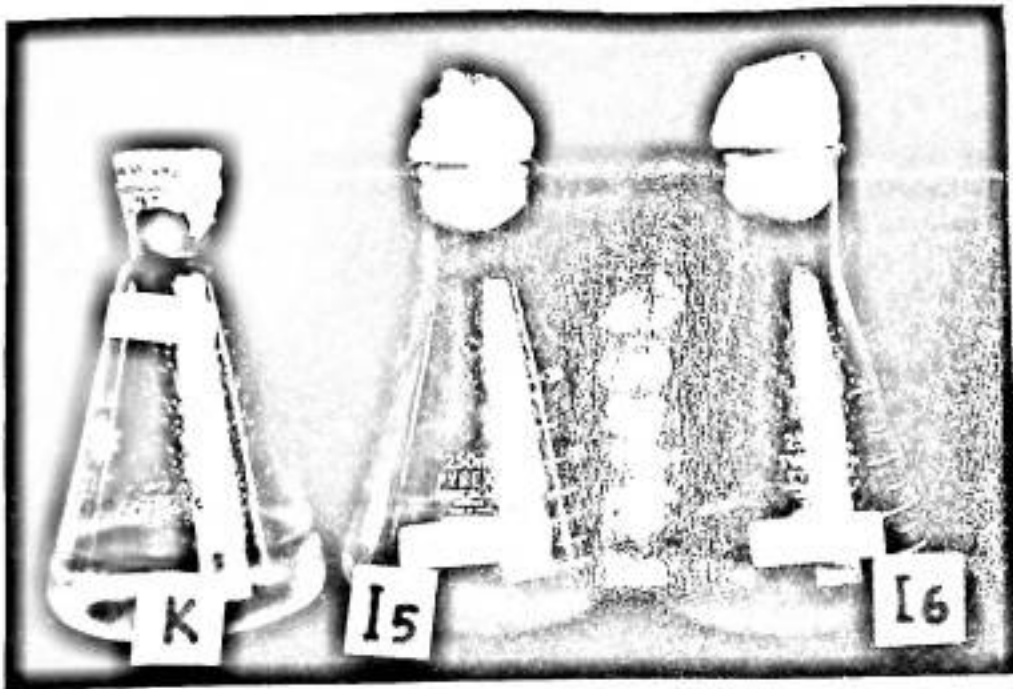
sedikit saja yang melekat pada dinding erlenmeyer, bahkan kultur I<sub>4</sub> memperlihatkan pada dinding erlenmeyer sudah bersih dari petroleum (Gambar 7, 8, 9, 10).



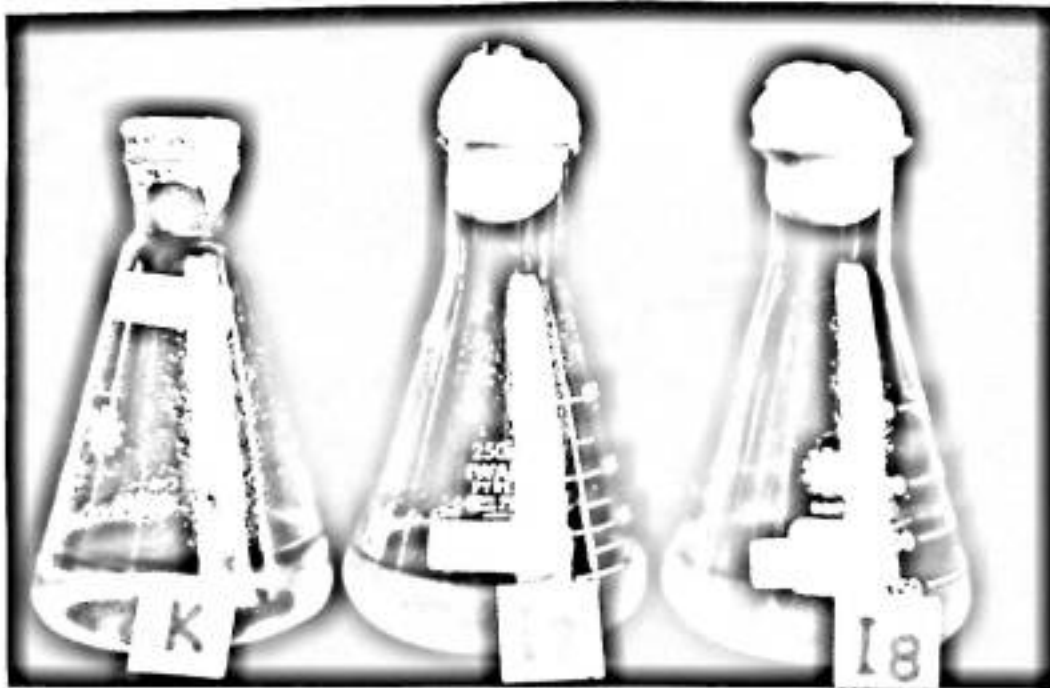
Gambar 7. Warna dan kondisi substrat petroleum kultur I<sub>1</sub> dan I<sub>2</sub> pada akhir inkubasi



Gambar 8. Warna dan kondisi substrat petroleum kultur I<sub>3</sub> dan I<sub>4</sub> pada akhir inkubasi



Gambar 9. Warna dan kondisi substrat petroleum kultur I<sub>5</sub> dan I<sub>6</sub> pada akhir inkubasi



Gambar 10. Warna dan kondisi substrat petroleum kultur I<sub>7</sub> dan I<sub>8</sub> pada akhir inkubasi

Hal ini dapat disebabkan oleh adanya senyawa pengemulsi yang dihasilkan bakteri, senyawa yang bersifat pengemulsi tersebut dapat menurunkan tegangan permukaan antara air dan minyak sehingga dapat bercampur. Husain *et. al*, (1997) mengemukakan bahwa bakteri yang tumbuh pada substrat yang mengandung senyawa hidrokarbon dapat mengekskresi senyawa-senyawa yang bersifat pengemulsi yang dikenal dengan nama "biosurfaktan".

Sebelumnya Cooney, J dalam Leahy dan Colwell (1990), mengemukakan, bahwa terbentuknya emulsi seiring dengan produksi dan pelepasan biosurfaktan oleh mikroba, yang merupakan suatu proses penting dalam pengambilan hidrokarbon oleh bakteri.

#### **IV. 2.2 Kurva Pertumbuhan**

Hasil pengukuran pertumbuhan bakteri dengan spektrometer pada panjang gelombang 610 nm untuk setiap kultur murni selanjutnya dibuat kurvanya pada kertas semi logaritma yang dapat dilihat pada grafik 1 - grafik 8.

Pengukuran pertumbuhan tersebut berdasarkan tingkat kekeruhan dari masing-masing isolat, dengan asumsi bahwa kekeruhan tersebut terjadi karena adanya pertumbuhan bakteri.

Dari grafik dapat terlihat kurva pertumbuhan dari setiap kultur. Nampak bahwa komunitas bakteri memiliki pertumbuhan cukup tinggi dengan kisaran densitas optik (DO) dari 0,018 – 2,30.

Pada kurva pertumbuhan kultur I<sub>3</sub> (grafik 3) dan kultur I<sub>5</sub> (grafik 5) yang merupakan isolat dari bakteri gram negatif serta kultur I<sub>4</sub> (grafik 4) yang merupakan

isolat dari bakteri gram positif memiliki pertumbuhan yang sangat baik dibanding dengan kultur yang lainnya. Hal ini terlihat dari nilai densitas optik (DO) awal dari kultur I<sub>3</sub>, I<sub>5</sub> dan I<sub>4</sub> berturut-turut 0,041, 0,036 dan 0,046. Selanjutnya densitas optik (DO) meningkat dan memasuki fase perlambatan (64 jam) dengan nilai Densitas Optik (DO) berturut-turut 2,30, 2,30 dan 1,757

Dibandingkan dengan kurva pertumbuhan antara kultur I<sub>3</sub> dan I<sub>5</sub> yang merupakan isolat dari bakteri gram negatif dengan kultur I<sub>4</sub> yang berasal dari isolat bakteri gram positif, menampakkan bahwa pada kultur I<sub>4</sub> terdapat peningkatan densitas optik setelah melewati fase perlambatan sehingga nampak terbentuk suatu fase yang cenderung linier. Oleh Husain *et. al* 1997, fase ini diamati pada pertumbuhan bakteri *Pseudomonas nautica* 617 dalam medium yang mengandung hidrokarbon alkana (Eicosana).

Selanjutnya pada kurva pertumbuhan kultur I<sub>7</sub> (grafik 7) dan kultur I<sub>8</sub> (grafik 8) yang merupakan isolat dari bakteri gram negatif serta kultur I<sub>2</sub> (grafik 2) yang merupakan isolat dari bakteri gram positif diperoleh densitas optik awalnya berturut-turut 0,036, 0,036 dan 0,032 dan selanjutnya densitas optik kultur ini sampai akhir masa eksponensial adalah berturut-turut 1,00 (120 jam), 0,824 (72 jam) dan 1,301 (176 jam).

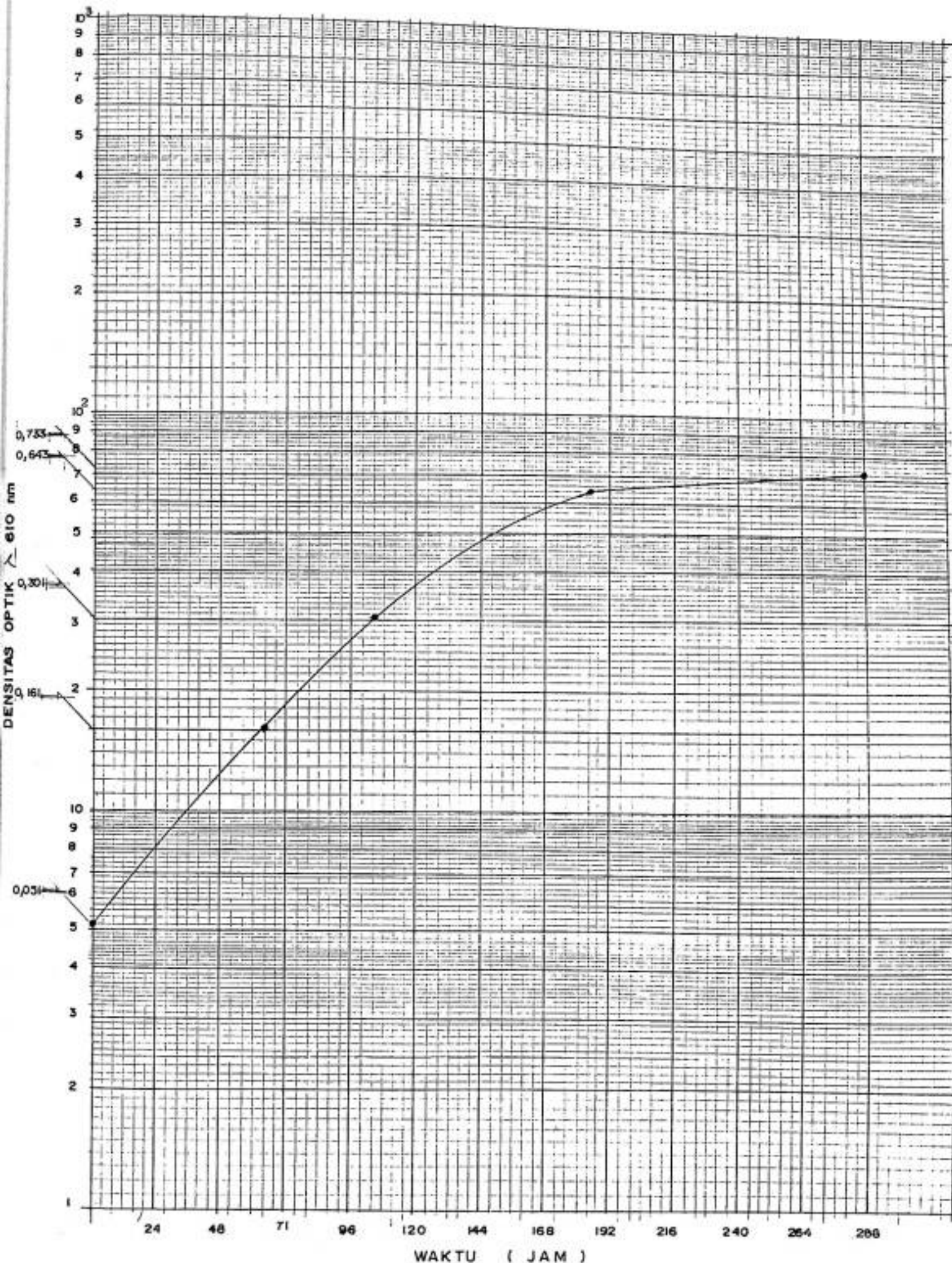
Apabila dibandingkan kurva pertumbuhan dari kultur isolat bakteri gram negatif (kultur I<sub>7</sub> dan I<sub>8</sub>) dan kultur isolat bakteri gram positif (kultur I<sub>2</sub>) menampakkan bahwa laju pertumbuhan dari kultur isolat bakteri gram positif (kultur I<sub>2</sub>) lebih lambat dibandingkan dengan laju pertumbuhan kultur isolat bakteri gram

negatif. Demikian pula bila ketiga kultur ini ( $I_7$ ,  $I_8$ , dan  $I_2$ ) dibandingkan dengan ketiga kultur dari  $I_3$ ,  $I_5$  dan  $I_4$  di atas menunjukkan bahwa kurva pertumbuhan ( $I_7$ ,  $I_8$  dan  $I_2$ ) terjadi peningkatan densitas optik di dalam fase linearnya dan laju pertumbuhannya lebih lambat. Sedangkan kultur  $I_1$  (grafik 1) dan  $I_6$  (grafik 6) yang berasal dari isolat bakteri gram negatif memiliki pertumbuhan kurang baik dengan diperolehnya densitas optik yang rendah sampai akhir masa eksponensial yaitu 0,643 (184 jam) dan 0,824 (192 jam)

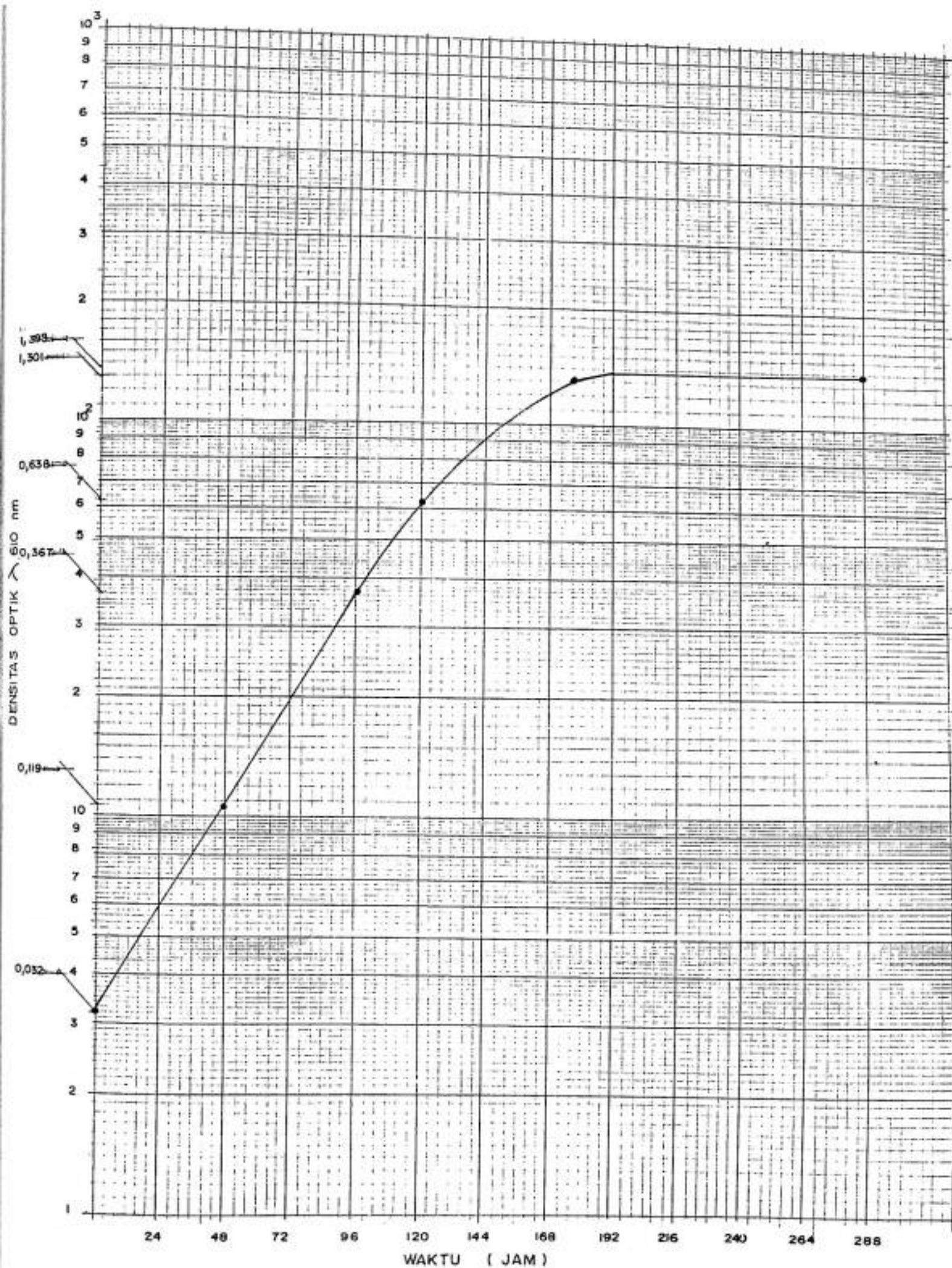
Pada kurva pertumbuhan yang diperoleh tidak teramati adanya fase adaptasi, namun langsung masuk ke dalam fase eksponensial yang kemudian diikuti dengan fase perlambatan dan selanjutnya fase yang cenderung linier. Husain *et. al*, (1997) telah mengamati fase pertumbuhan demikian pada bakteri *Pseudomonas nautica* 617 yang tumbuh pada substrat hidrokarbon eicosan dan disebut sebagai fase linear. Selanjutnya oleh peneliti tersebut, dianggap bahwa fase ini sebagai salah satu ciri khas yang muncul pada kurva pertumbuhan bakteri pada substrat yang mengandung hidrokarbon.

Scleger (1994), menyatakan bahwa keterbatasan substrat, kepadatan populasi yang tinggi, tekanan parsial oksigen yang rendah dan timbunan produk metabolisme yang bersifat toksik, dapat menurunkan kecepatan pertumbuhan, selanjutnya dapat pula disebabkan oleh adanya perubahan kondisi lingkungan seperti perubahan pH yang tajam sebagai akibat dari hasil metabolisme sel.



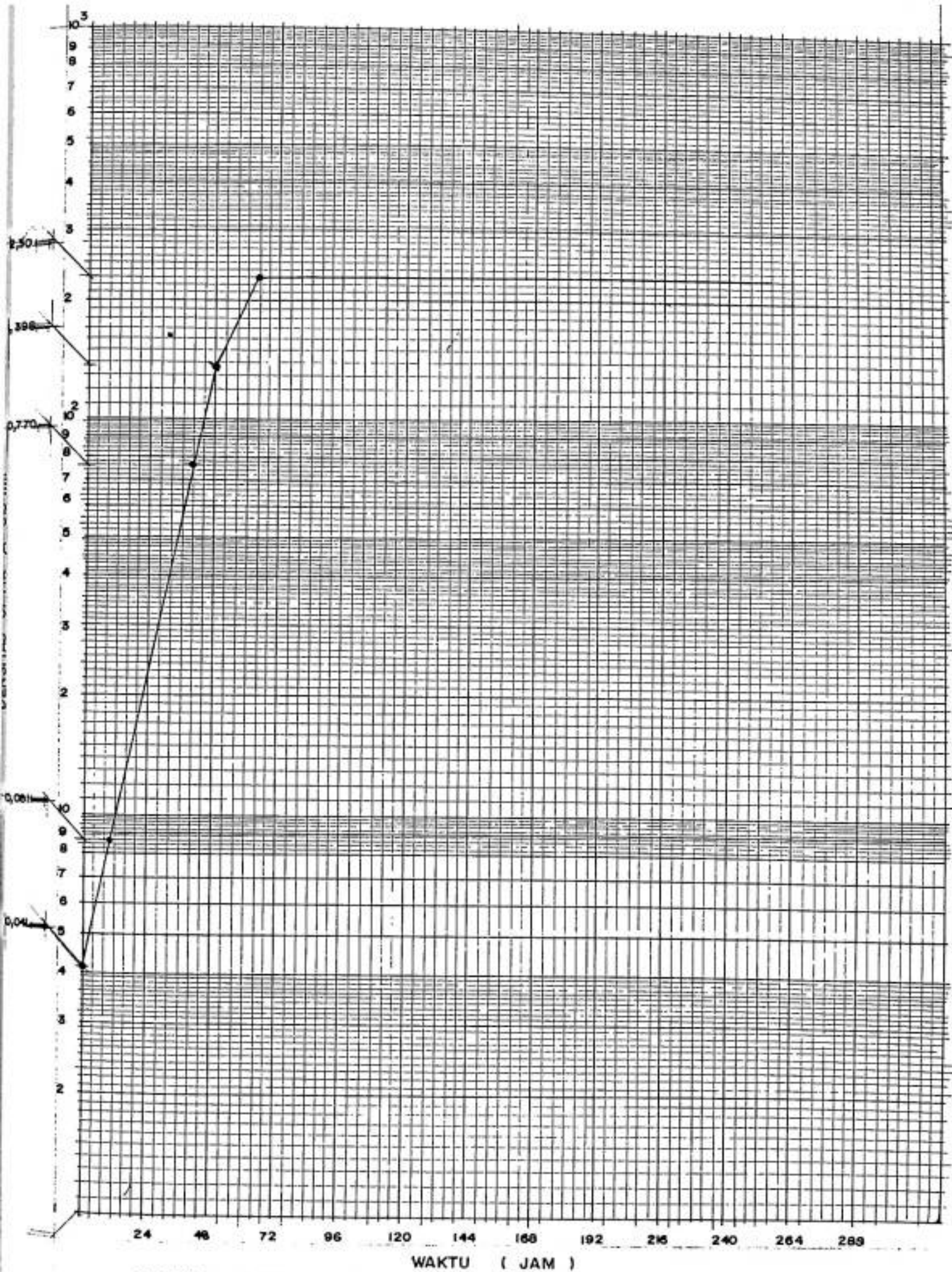


GRAFIK I. KURVA PERTUMBUHAN KULTUR I<sub>1</sub> DENGAN SUBSTRAT PETROLEUM



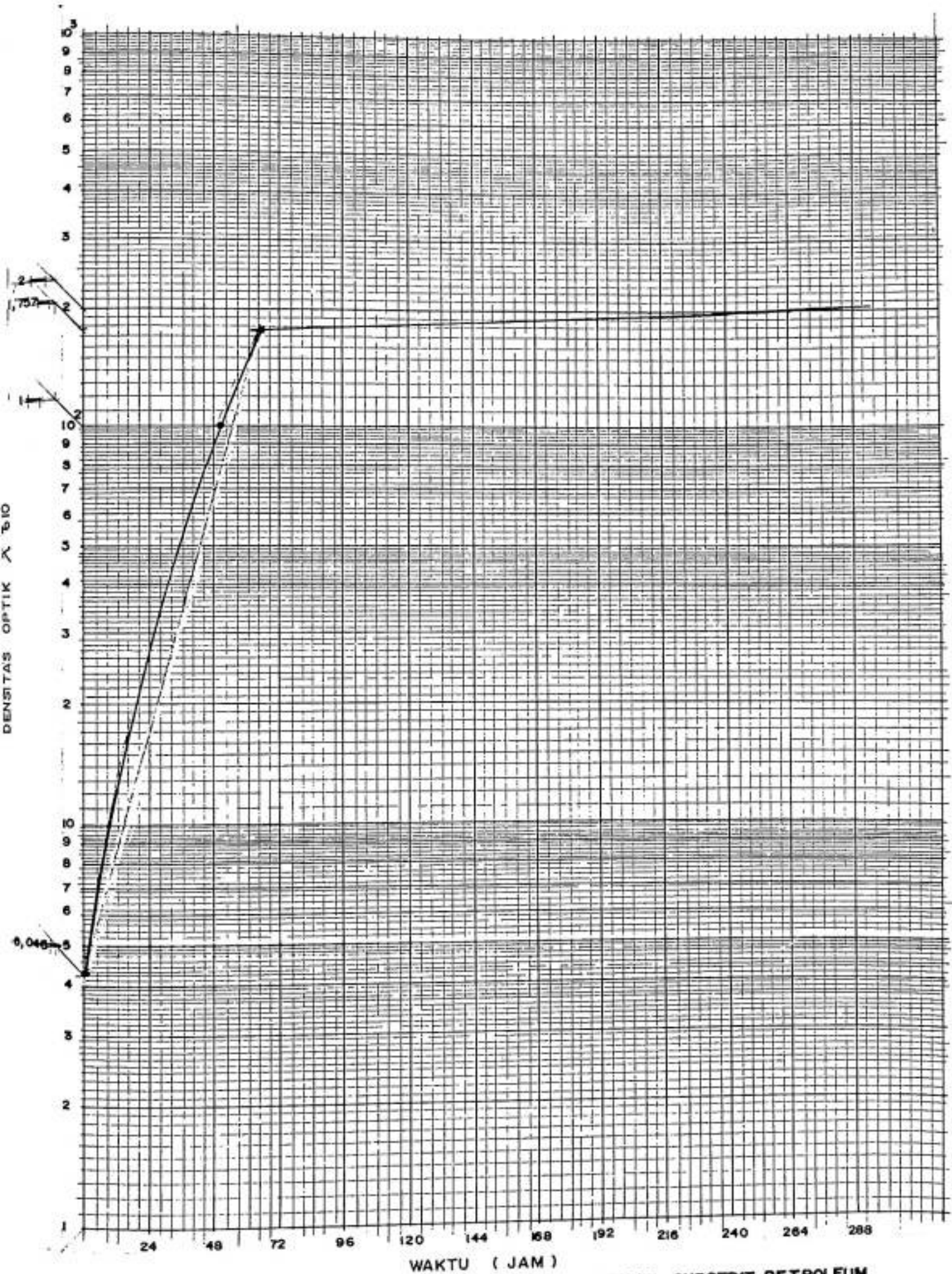
GRAFIK 2. KURVA PERTUMBUHAN KULTUR I<sub>2</sub> DENGAN SUBSTRAT PETROLEUM



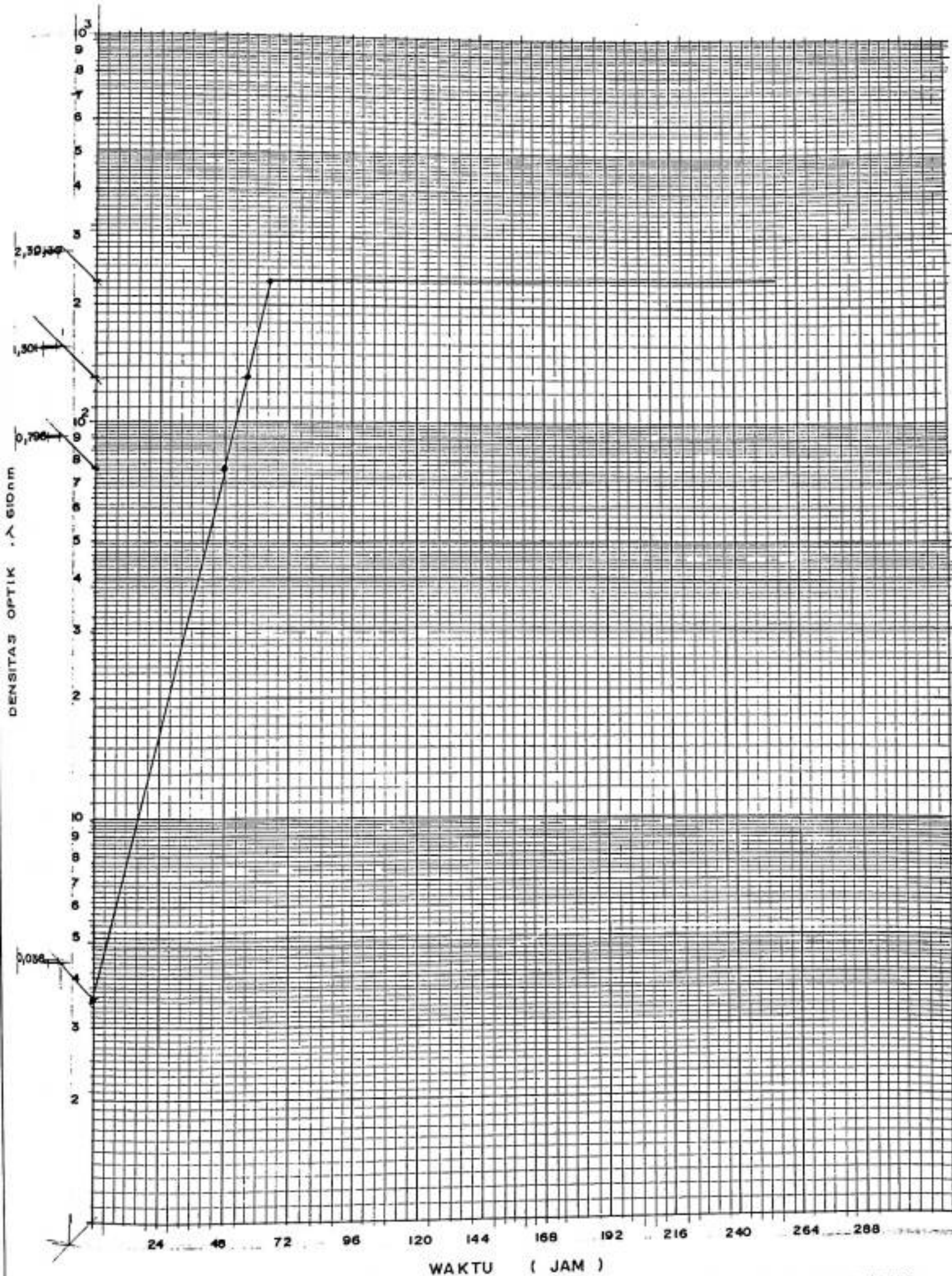


GRAFIK 3. KURVA PERTUMBUHAN KULTUR I<sub>3</sub> DENGAN SUBSTRAT PETROLEUM



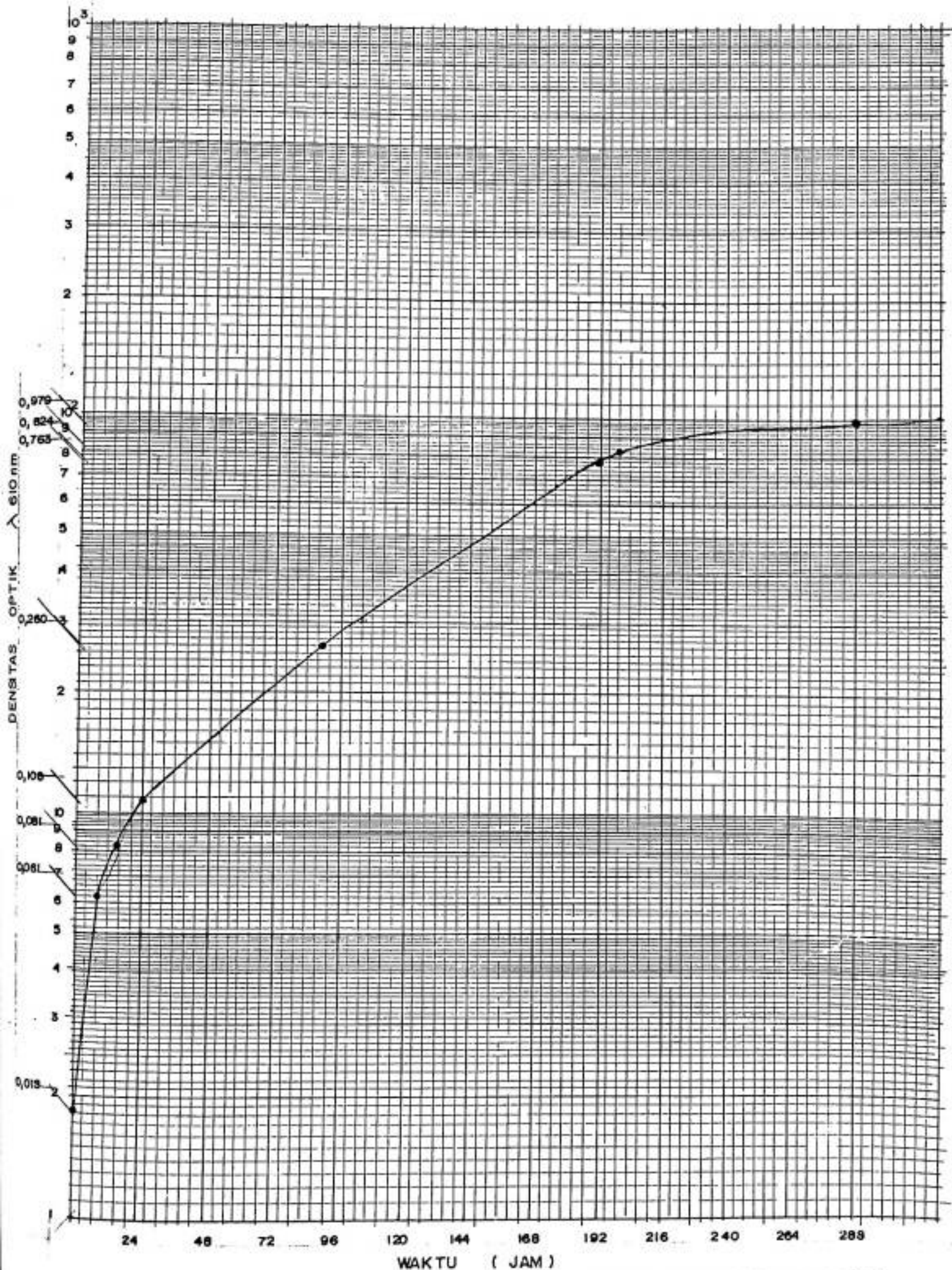


GRAFIK 4. KURVA PERTUMBUHAN KULTUR I<sub>4</sub> DENGAN SUBSTRAT PETROLEUM

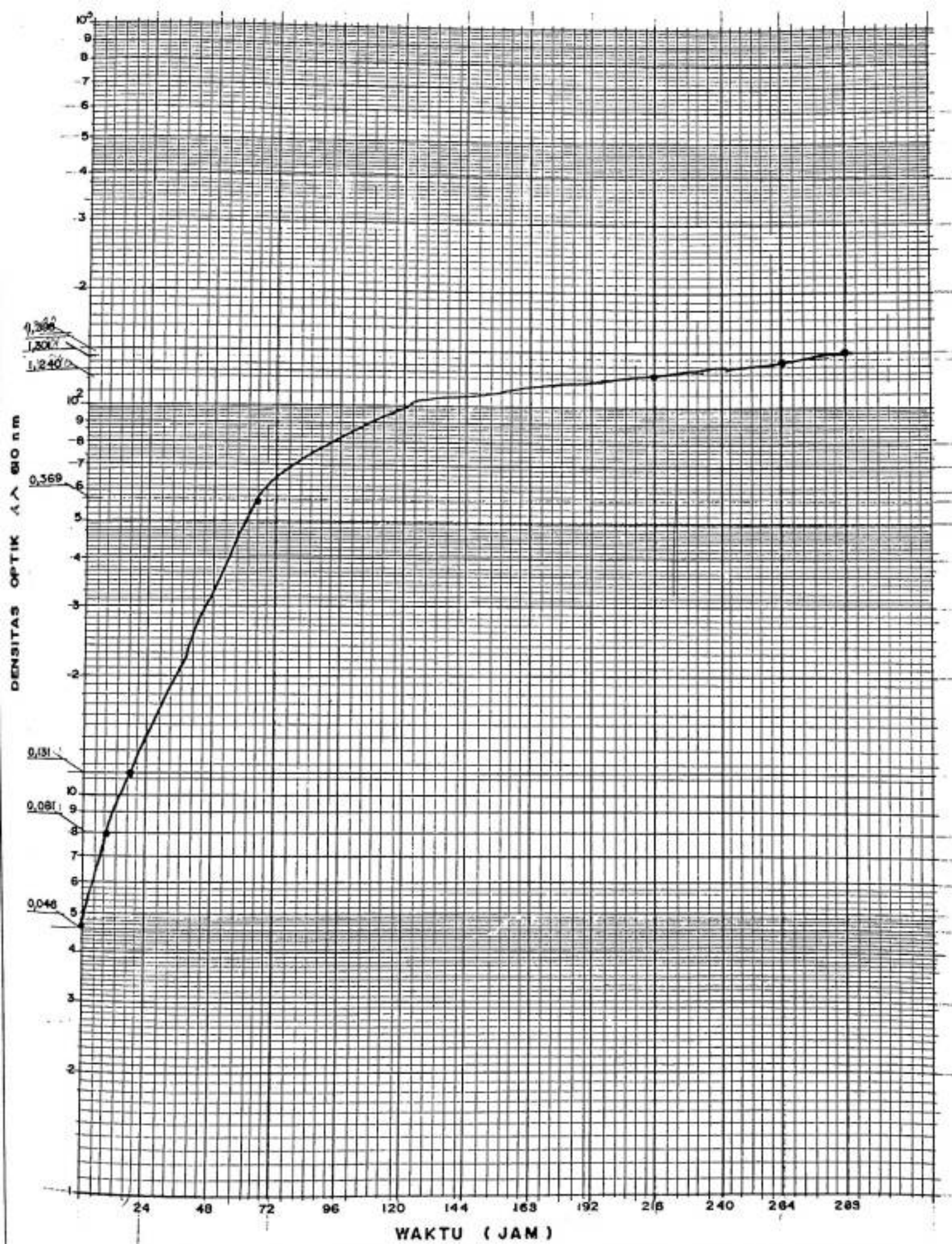


GRAFIK 5. KURVA PERTUMBUHAN KULTUR 15 DENGAN SUBSTRAT PETROLEUM



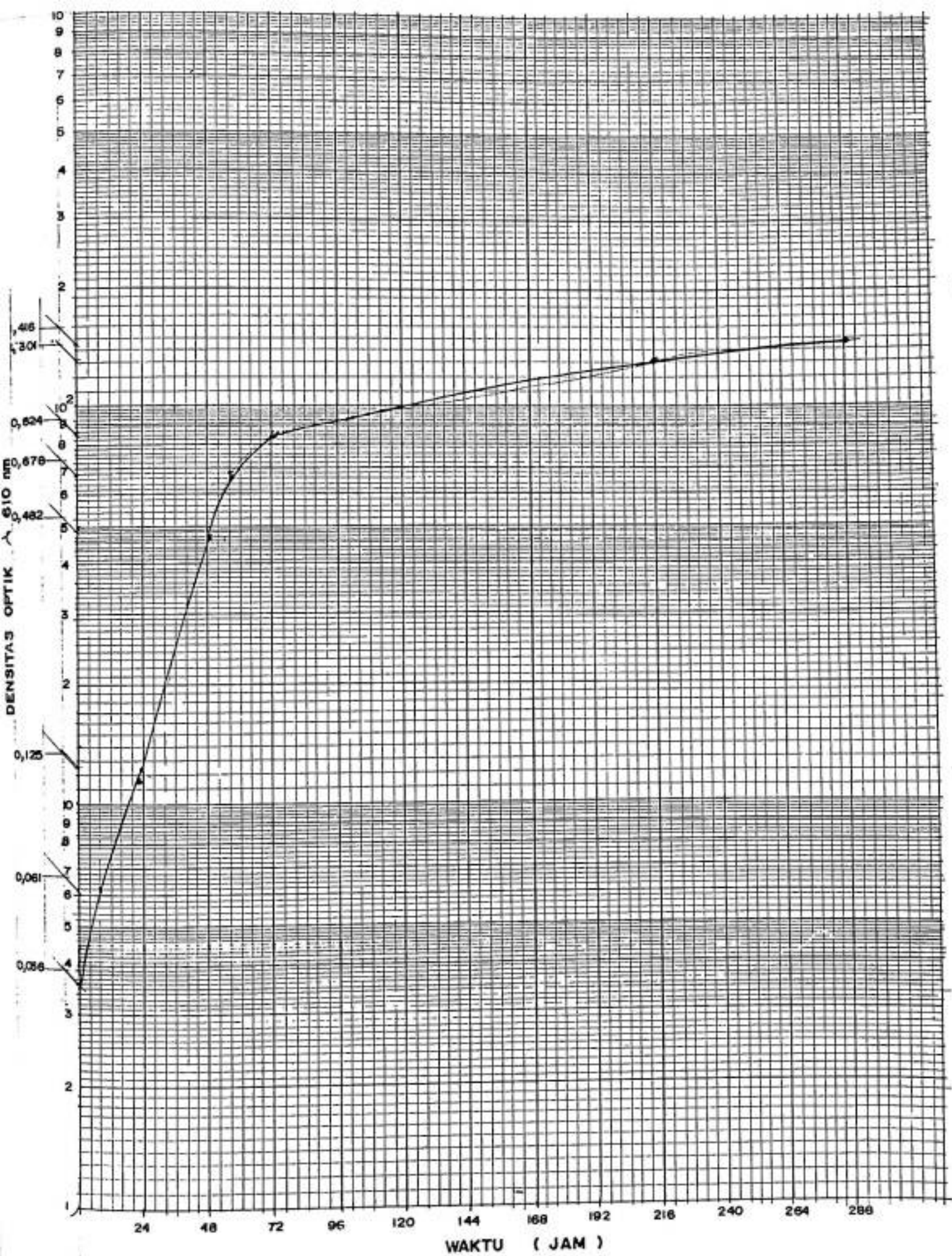


GRAFIK 6. KURVA PERTUMBUHAN KULTUR I6 DENGAN SUBSTRAT PETROLEUM



GRAFIK 7. KURVA PERTUMBUHAN KULTUR 17 DARI SUBSTRAT PETROLEUM





GRAFIK 8. KURVA PERTUMBUHAN KULTUR I<sub>B</sub> DENGAN SUBSTRAT PETROLIUM

### IV.2.3 Masa Generasi Bakteri

Di bawah ini dapat dilihat masa generasi dari isolat bakteri yang digunakan pada substrat petroleum.

Tabel 3. Hasil Perhitungan Masa Generasi Bakteri Pada Substrat Petroleum

Isolat	Masa Generasi (jam)
I <sub>1</sub>	96
I <sub>2</sub>	72
I <sub>3</sub>	20
I <sub>4</sub>	28
I <sub>5</sub>	20
I <sub>6</sub>	136
I <sub>7</sub>	46
I <sub>8</sub>	30

Dari ke 8 kultur di atas terlihat bahwa I<sub>3</sub>, I<sub>4</sub> dan I<sub>5</sub> memiliki masa generasi yang paling pendek yaitu berturut-turut 20, 28 dan 20 jam, hal ini berarti pertumbuhan populasi bakteri cepat. Kalau dibandingkan antara kultur isolat bakteri gram negatif (I<sub>3</sub> dan I<sub>5</sub>) dan kultur isolat bakteri gram positif (I<sub>4</sub>) nampak bahwa pertumbuhan kultur isolat bakteri gram negatif lebih baik pada substrat petroleum.

Demikian juga terlihat pada kultur I<sub>7</sub>, I<sub>8</sub> dan I<sub>2</sub> yang memiliki masa generasi agak lambat bila dibandingkan ketiga kultur isolat di atas, yakni berturut-turut 46, 30, dan 72 jam. Kultur I<sub>7</sub> dan I<sub>8</sub> yang berasal dari isolat bakteri gram negatif

lebih pendek masa generasinya bila dibandingkan dengan I<sub>2</sub> yang berasal dari isolat bakteri gram positif.

Pada kultur I<sub>1</sub> dan I<sub>6</sub> memiliki masa generasi yang paling lambat (96 dan 136 jam) jika dibandingkan kultur yang lainnya misalnya I<sub>3</sub> dan I<sub>5</sub> (20 jam). Salah satu indikasi yang mempengaruhi lambat atau cepatnya masa generasi yaitu pengaruh lingkungan antara lain kandungan nutrisi di dalam media pertumbuhan (Pelczar, *et al.*, 1986). oleh Cooney, J dalam Leahy dan Colwell (1990), mengemukakan bahwa adanya perbedaan pertumbuhan bakteri pada substrat hidrokarbon dapat disebabkan oleh kemampuan yang berbeda-beda masing-masing isolat dalam merombak petroleum, yang digunakan sebagai satu-satunya sumber energi dalam pertumbuhan bakteri tersebut.

### **IV.3 Kapasitas Biodegradasi**

#### **IV.3.1 Secara Kuantitatif**

Pengukuran kapasitas biodegradasi secara kuantitatif dilakukan untuk mengetahui prosentase biodegradasi petroleum oleh bakteri dalam media pembiakan selama 15 hari masa inkubasi.

Hasil ekstraksi bahan organik (EBO) dari masing-masing kultur dapat dilihat pada tabel 4. di bawah ini:

Tabel 4. Hasil Analisa Kuantitatif Hidrokarbon (ekstraksi) petroleum pada masing-masing kultur

Kultur	Berat awal (gram)	Berat akhir (gram)	Persentase Biodegradasi (%)
Kontrol	± 1	0,962	-
I <sub>1</sub>	± 1	0,872	9,0
I <sub>2</sub>	± 1	0,503	45,9
I <sub>3</sub>	± 1	0,324	63,8
I <sub>4</sub>	± 1	0,375	58,7
I <sub>5</sub>	± 1	0,233	72,9
I <sub>6</sub>	± 1	0,489	47,3
I <sub>7</sub>	± 1	0,264	69,8
I <sub>8</sub>	± 1	0,454	50,8

Tabel 4. Menunjukkan prosentase biodegradasi dari masing-masing kultur I<sub>1</sub>, I<sub>2</sub>, I<sub>3</sub>, I<sub>4</sub>, I<sub>5</sub>, I<sub>6</sub>, I<sub>7</sub> dan I<sub>8</sub> berturut-turut adalah 9,0 %, 45,9 %, 63,8 %, 58,7 %, 72,9 %, 47,3 %, 69,8 %, dan 50,8 %.

Kultur I<sub>5</sub> menunjukkan tingkat biodegradasi yang paling tinggi diantara kultur lainnya yaitu 72,9 %, kemudian berturut-turut diikuti oleh Kultur I<sub>7</sub>, I<sub>3</sub>, I<sub>4</sub>, I<sub>8</sub>, I<sub>6</sub>, I<sub>2</sub> dan I<sub>1</sub> dengan kapasitas biodegradasi masing-masing 69,8 %, 63,8 %, 58,7 %, 50,8 %, 47,3 %, 45,9 % dan 9,0 %.

Bila dibandingkan antara kultur isolat bakteri gram negatif dan kultur yang berasal dari isolat bakteri gram positif ternyata bahwa kultur isolat bakteri gram negatif (I<sub>5</sub>, I<sub>7</sub>, I<sub>3</sub>) memiliki tingkat biodegradasi yang lebih tinggi (72,9%; 69,8%; 63,8%) dari pada kultur isolat bakteri gram positif I<sub>4</sub> (58,7%). Demikian bila dibandingkan antara kultur bakteri gram negatif I<sub>8</sub>; I<sub>6</sub> (50,8%; 47,3) dengan kultur



bakteri gram positif I<sub>2</sub>. Sedangkan kultur I<sub>1</sub> yang berasal dari bakteri gram negatif memiliki tingkat biodegradasi yang paling rendah yaitu hanya 9,0% saja.

Ronald and Richard (1972), dalam penelitiannya menggunakan dua jenis bakteri yang diseleksi dari 30 mikroorganisme yaitu *Flavobacterium sp.* (gram negatif), yang diperoleh dari air payau Arthur Kill dan *Brevibacterium sp.*, (gram positif) diisolasi dari daerah pesisir pantai Sweden oleh Sandy Hook, N.J. Peneliti tersebut memperoleh hasil biodegradasi pada minyak mentah selama 12 hari yaitu masing-masing *Flavobacterium sp.*, 57% dan *Brevibacterium sp.*, 40%, namun bila peneliti tersebut menggunakan substrat hidrokarbon n-paraffins dan diinkubasi selama 12 hari maka diperoleh prosentase biodegradasi masing-masing dengan bakteri *Flavobacterium sp.* sebanyak 70 % dan *Brevibacterium sp.* 35 %.

Adanya perbedaan biodegradasi dari setiap kultur dapat disebabkan oleh besarnya kepadatan bakteri pada masing-masing media pertumbuhan atau kemampuan bakteri untuk hidup dan berkembang biak dalam media pertumbuhan. Conney, J dalam Leahy dan Colwell (1990), menyatakan bahwa bakteri merupakan mikroorganisme yang paling penting perannya dalam mendegradasi hidrokarbon. Mikroorganisme ini memanfaatkan senyawa hidrokarbon sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi untuk pertumbuhannya.

Hal lain yang dapat menyebabkan perbedaan kapasitas biodegradasi yaitu kemampuan yang berbeda-beda dari masing-masing isolat dalam menghasilkan pengemulsi sehingga petroleum dapat tercampur dengan air secara sempurna. Oleh Husain *et. al.* (1997) senyawa yang bersifat pengemulsi ini dikenal dengan nama

biosurfaktan. Remibelosari *et. al.*, dalam Austin (1993) menyatakan bahwa pertumbuhan bakteri hidrokarbon mendorong produksi biosurfaktan yang dapat mengemulsi substrat. Produksi dan pelepasan biosurfaktan oleh mikroba, merupakan suatu proses penting dalam pengambilan hidrokarbon oleh bakteri.

#### **IV. 3.2 Secara kualitatif**

Untuk menentukan jenis rantai karbon yang dapat diputuskan oleh bakteri dalam proses biodegradasi maka setiap sampel yang telah diekstraksi selanjutnya diinjeksikan ke dalam kromatografi gas. Sebelum analisis kromatografi gas, masing-masing kultur terlebih dahulu dipisahkan antara fraksi n-alkana dengan fraksi aromatik dalam kolom fraksinasi. Hal ini dilakukan karena hanya fraksi n-alkana yang dapat dibaca atau dilewatkan pada alat kromatografi gas.

Setelah dilakukan penginjeksian ke dalam kromatografi gas diperoleh hasil kromogram yang berupa pik. Hasil kromogram tersebut dibandingkan dengan kromogram dari kontrol. Hasil yang diperoleh menunjukkan adanya pemutusan pada beberapa rantai karbon n-alkana, dan hasil kromogramnya dapat dilihat dalam gambar 11 – 19.

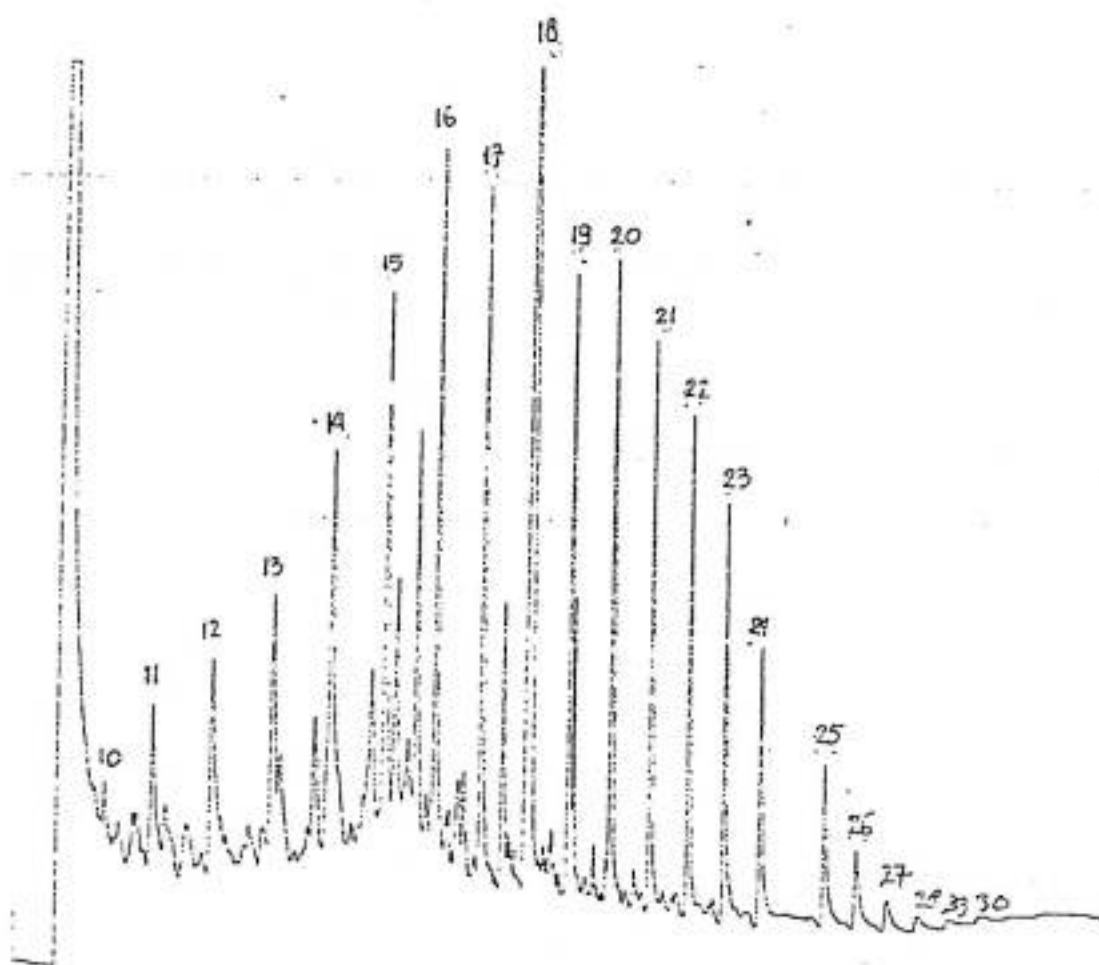
Secara umum, bila dibandingkan dengan kromogram kontrol (Gambar 11) nampak bahwa masing-masing kultur dapat memutuskan rantai karbon fraksi n-alkana ( $C_{10} - C_{17}$ ) dan rantai ( $C_{19} - C_{30}$ ). Kecuali rantai karbon  $C_{18}$  hanya dapat diputuskan oleh kultur  $I_5$ ,  $I_6$ , dan  $I_8$  dimana kultur ini berasal dari isolat bakteri gram negatif.

Bila dibandingkan kultur yang berasal dari isolat bakteri gram positif I<sub>2</sub> dan I<sub>4</sub> (Gambar 13 dan 15) dimana kultur I<sub>2</sub> dan I<sub>4</sub> ini tidak dapat memutuskan rantai karbon C<sub>18</sub> dan hanya memutuskan secara sempurna rantai karbon C<sub>10</sub> (kultur I<sub>2</sub>) dan rantai karbon C<sub>10</sub> – C<sub>13</sub> (kultur I<sub>4</sub>) menunjukkan bahwa kultur yang berasal dari isolat bakteri gram negatif memiliki tingkat biodegradasi lebih tinggi dari kultur isolat bakteri gram positif. demikian pula dengan kultur I<sub>1</sub>, I<sub>3</sub> dan I<sub>7</sub> yang berasal dari isolat bakteri gram negatif yang memutuskan lebih banyak rantai karbon dengan sempurna dibandingkan dengan kultur I<sub>2</sub> dan I<sub>4</sub>.

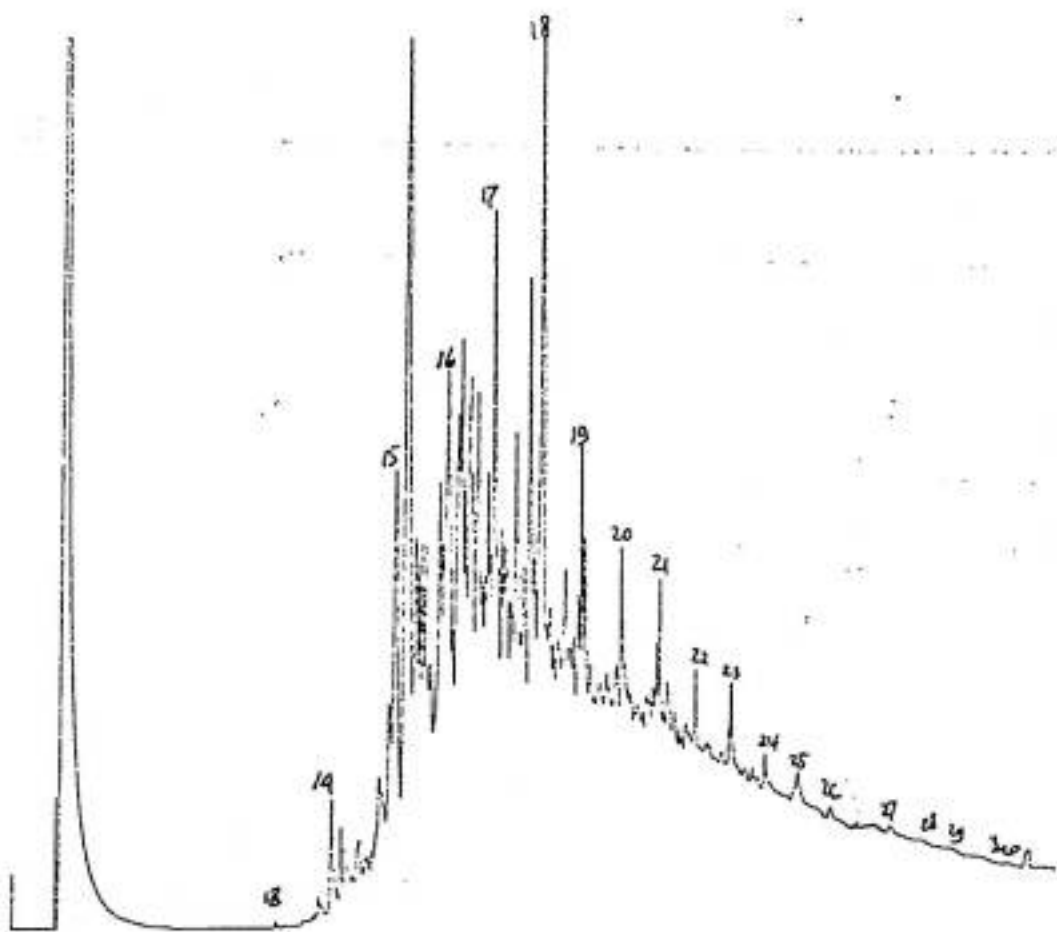
Secara keseluruhan rantai karbon C<sub>10</sub> dapat diputuskan secara sempurna oleh masing-masing kultur, hal ini dapat dilihat pada kromatogram setiap kultur yang dapat diputuskan secara sempurna yaitu: Kultur I<sub>1</sub> (Gambar 12) rantai karbon C<sub>10</sub> – C<sub>13</sub> dan C<sub>26</sub> – C<sub>30</sub>, kultur I<sub>2</sub> (Gambar 13) hanya rantai karbon C<sub>10</sub>, kultur I<sub>3</sub> (gambar 14) rantai karbon C<sub>10</sub> – C<sub>12</sub>, kultur I<sub>4</sub> dan I<sub>5</sub> (gambar 15 dan 16) rantai karbon C<sub>10</sub> – C<sub>13</sub>, kultur I<sub>6</sub> (Gambar 17) rantai karbon C<sub>10</sub> – C<sub>14</sub>, kultur I<sub>7</sub> (Gambar 18) rantai karbon C<sub>10</sub> – C<sub>12</sub> dan kultur I<sub>8</sub> (Gambar 19) rantai karbon C<sub>10</sub> – C<sub>15</sub> dan C<sub>27</sub> – C<sub>30</sub>.

Adanya pemutusan yang tidak sempurna pada rantai karbon yang teramati pada kromatogram selama proses biodegradasi oleh isolat bakteri yang dicobakan tidak berarti bahwa rantai karbon tersebut tidak mampu diputuskan. Hal tersebut merupakan proses pemutusan yang lambat disebabkan oleh keadaan fisik dari hidrokarbon serta konsentrasi hidrokarbon yang tinggi dalam petroleum yang digunakan sebagai substrat seperti pada rantai karbon C<sub>18</sub> yang tidak dapat diputuskan oleh sebagian bakteri. Dinyatakan oleh Atlas (1992), bahwa rendahnya pemutusan

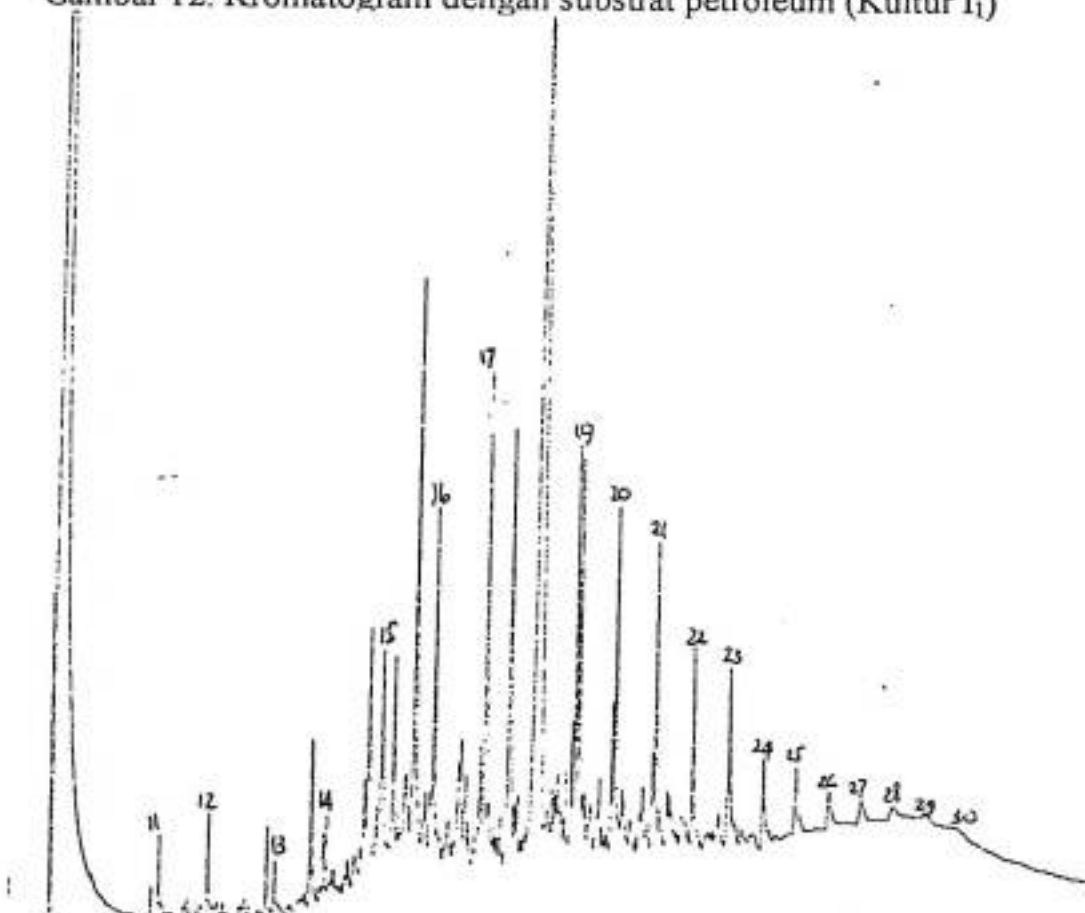
rantai karbon n-alkana dapat disebabkan oleh bagian fisik dari hidrokarbon yang mempunyai konsentrasi yang tinggi. Selanjutnya dikatakan pula biodegradasi hidrokarbon oleh mikroorganisme sebagian besar dikontrol oleh faktor abiotik seperti evaporasi dan faktor kimia yang lain. Secara umum faktor tersebut mempengaruhi mikroba dan aktifitas enzimatis. Selain hal tersebut ketahanan petroleum dari serangan bakteri bergantung pada kuantitas dan kualitas dari campuran hidrokarbon yang dikandung serta kondisi fisik seperti temperatur, nutrisi dan oksigen.



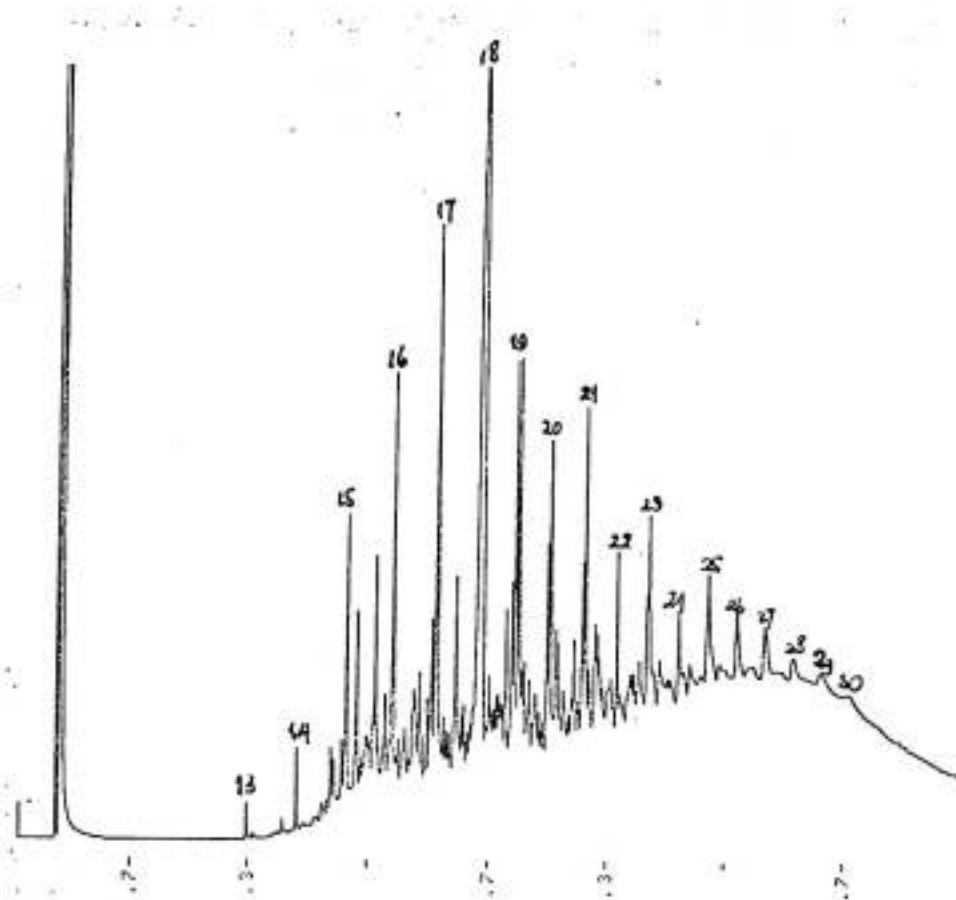
Gambar 11. Kromatogram dengan substrat petroleum (Kontrol)



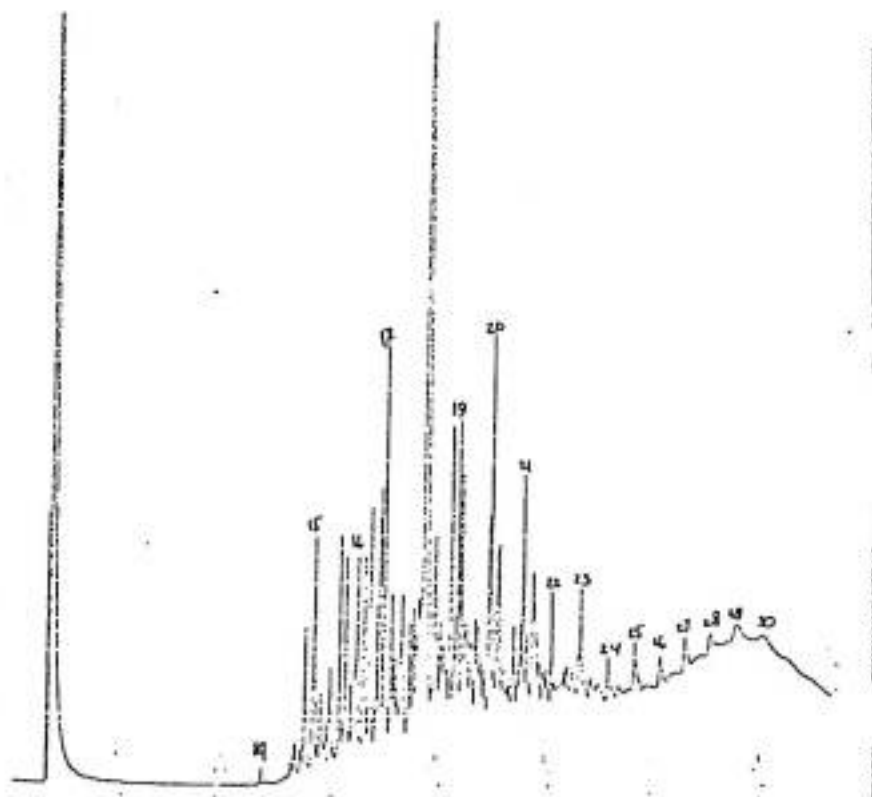
Gambar 12. Kromatogram dengan substrat petroleum (Kultur I<sub>1</sub>)



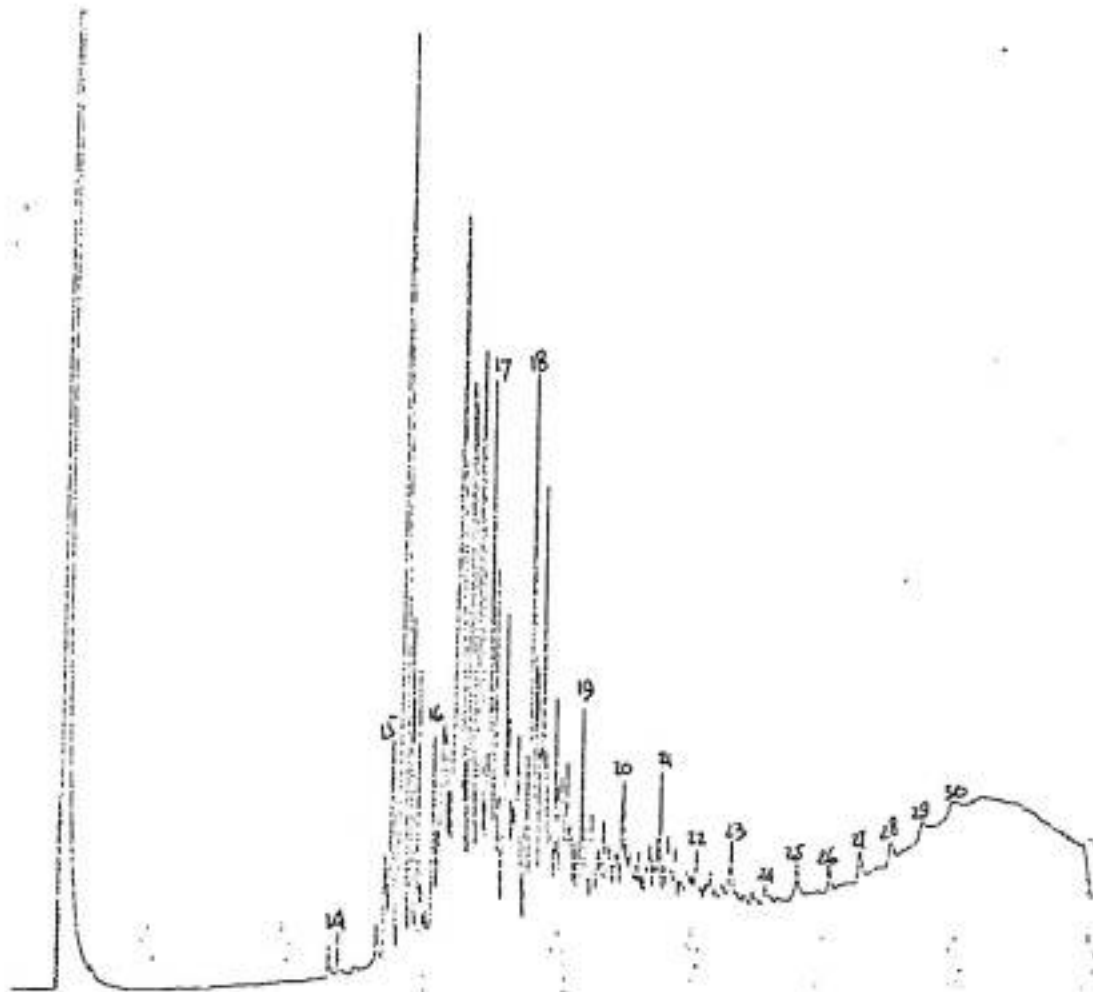
Gambar 13. Kromatogram dengan substrat petroleum (Kultur I<sub>2</sub>)



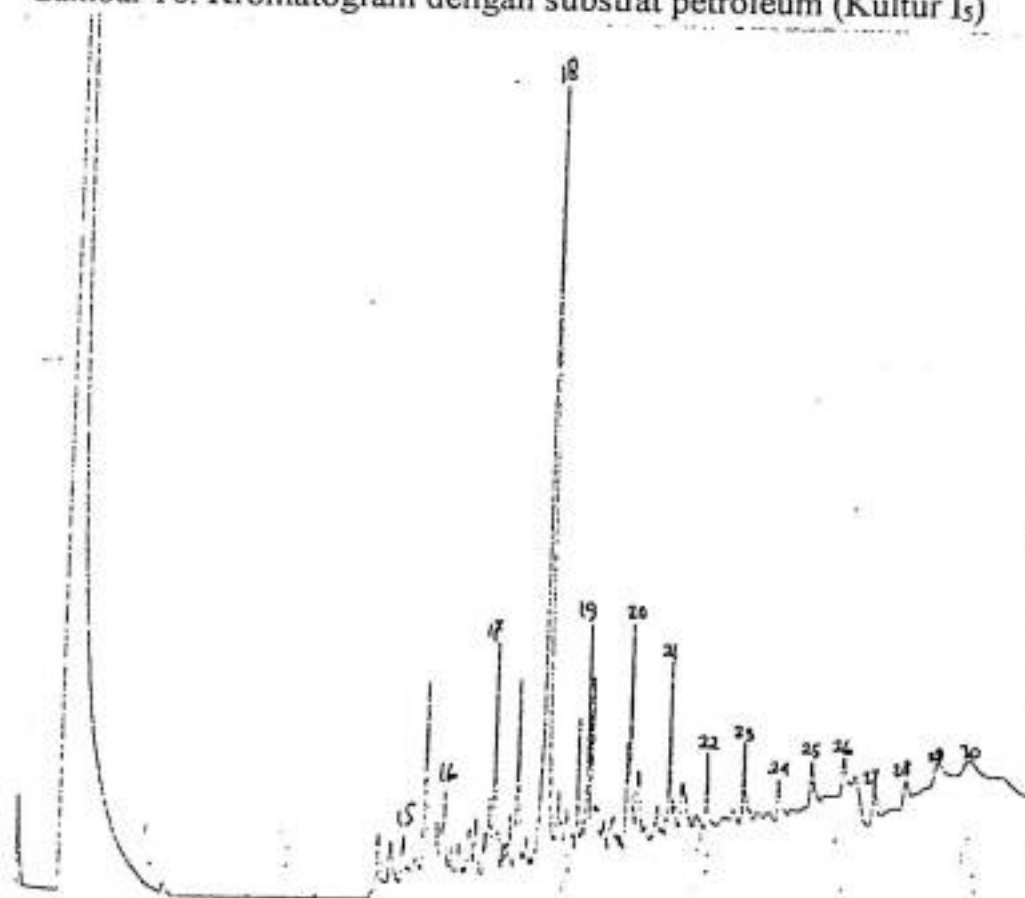
Gambar 14. Kromatogram dengan substrat petroleum (Kultur I<sub>3</sub>)



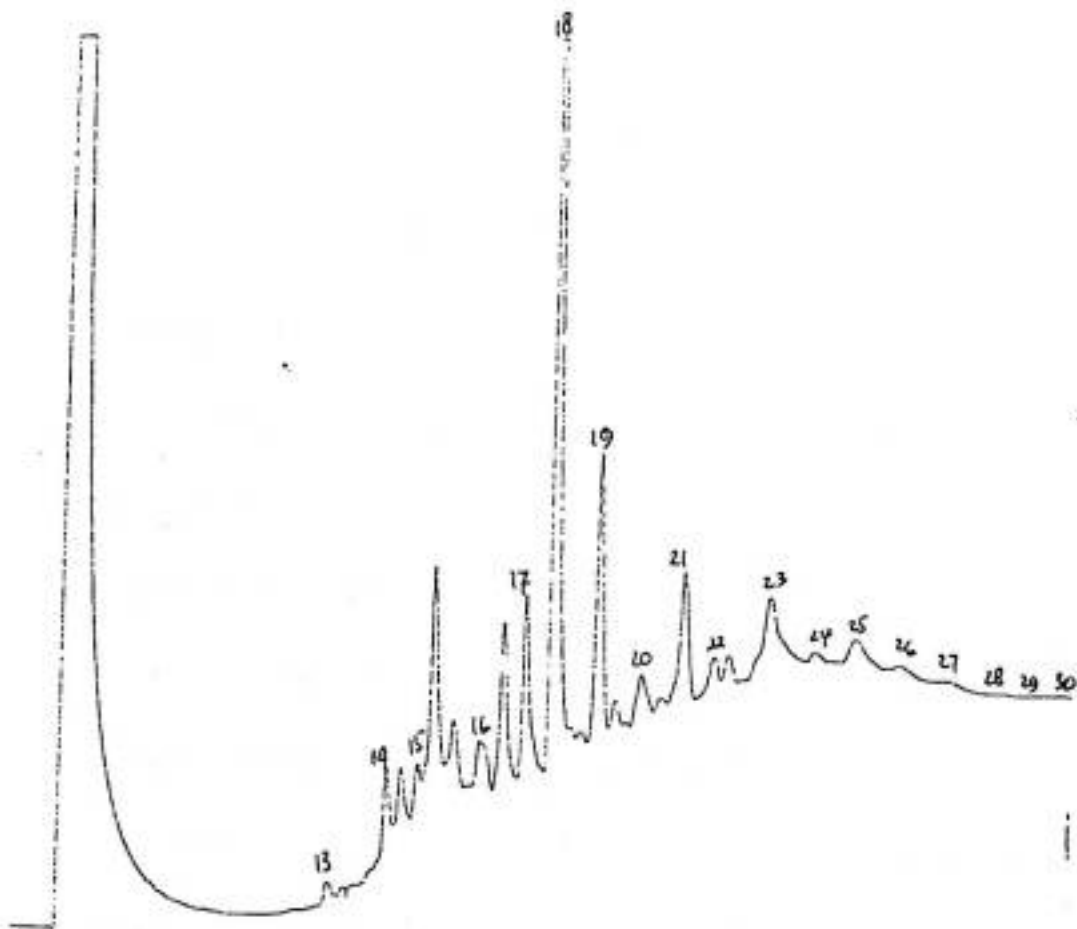
Gambar 15. Kromatogram dengan substrat petroleum (Kultur I<sub>4</sub>)



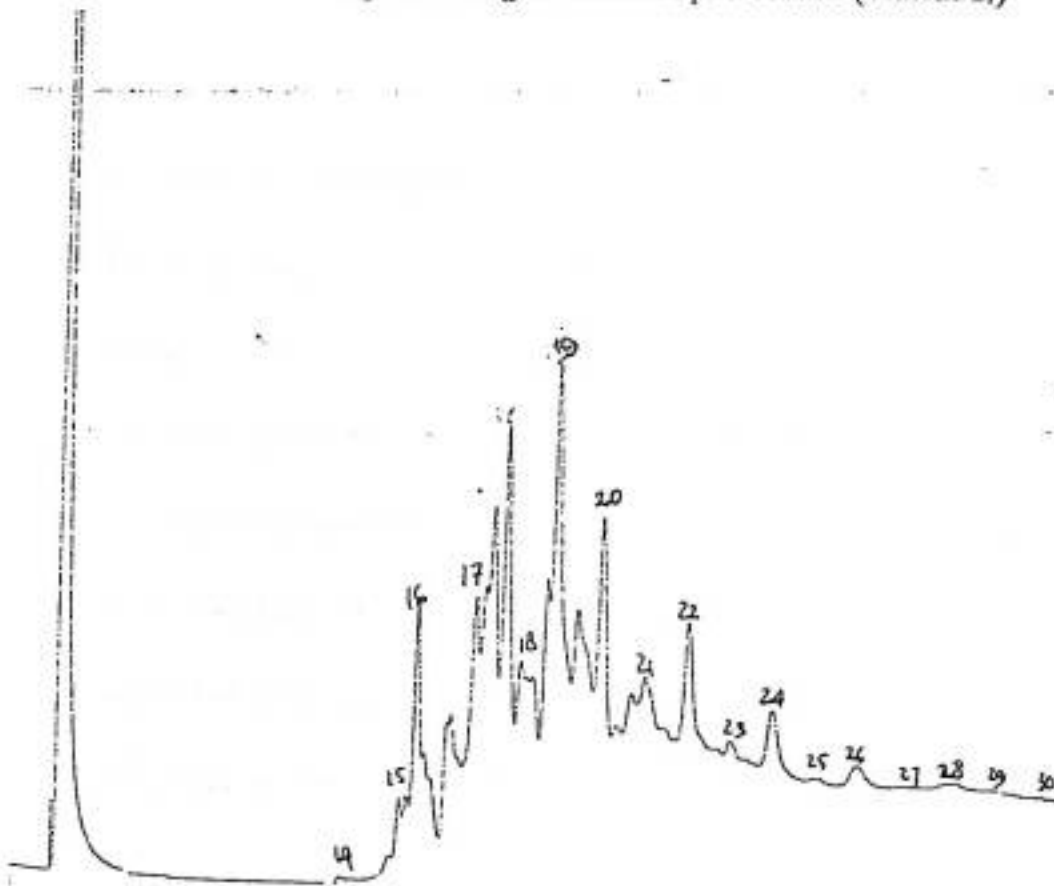
Gambar 16. Kromatogram dengan substrat petroleum (Kultur I<sub>5</sub>)



Gambar 17. Kromatogram dengan substrat petroleum (Kultur I<sub>6</sub>)



Gambar 18. Kromatogram dengan substrat petroleum (Kultur I<sub>7</sub>)



Gambar 19. Kromatogram dengan substrat petroleum (Kultur I<sub>8</sub>)



## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### V. 1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Pertumbuhan bakteri pada substrat petroleum yang baik adalah pada kultur I<sub>3</sub>, I<sub>4</sub> dan I<sub>5</sub> yang memasuki fase perlambatan dalam 64 jam. Kultur I<sub>3</sub> dan I<sub>5</sub> yang berasal dari isolat bakteri gram negatif lebih tinggi nilai densitas optiknya yaitu 2,30 dibanding I<sub>4</sub> yang berasal dari isolat bakteri gram positif dengan nilai densitas optik 1,757. Pada kultur I<sub>1</sub>, I<sub>2</sub>, I<sub>6</sub>, I<sub>7</sub> dan I<sub>8</sub> masing-masing nilai densitas optik tertingginya adalah: I<sub>1</sub> (0,733), I<sub>2</sub> (1,398), I<sub>6</sub> (0,979), I<sub>7</sub> (1,398) dan I<sub>8</sub> (1,426).
2. Hasil perhitungan masa generasi dari isolat bakteri yang diuji adalah I<sub>3</sub> (10 jam), I<sub>4</sub> dan I<sub>5</sub> (12 jam), I<sub>8</sub> (28 jam), I<sub>7</sub> (48 jam), I<sub>2</sub> (56 jam), I<sub>1</sub> (102 jam) dan I<sub>6</sub> (112 jam).
3. Secara kuantitatif, biodegradasi petroleum oleh isolat bakteri ini yang terbesar diperlihatkan oleh isolat I<sub>5</sub> (72,9 %), kemudian I<sub>7</sub> (69,8 %), I<sub>3</sub> (63,8 %) yang ketiganya berasal dari isolat bakteri gram negatif, setelah itu I<sub>4</sub> (58,7 %) yang berasal dari isolat bakteri gram positif, kemudian berturut-turut I<sub>8</sub> (50,8 %), I<sub>6</sub> (47,3 %), I<sub>2</sub> (45,9 %) dan I<sub>1</sub> (9,0 %).

4. Biodegradasi secara kualitatif, yang paling baik adalah I<sub>5</sub>, I<sub>6</sub> dan I<sub>8</sub> yang ketiganya berasal dari isolat bakteri gram negatif, dimana pemutusan rantai karbon terdapat pada semua rantai karbon dari fraksi alkana (C<sub>10</sub> – C<sub>30</sub>) sedangkan pada uji yang lainnya rantai karbon dari fraksi alkana pada (C<sub>18</sub>) tidak dapat diputuskan oleh bakteri pada proses biodegradasi.

## V.2 Saran

Perlu diidentifikasi isolat-isolat yang memperlihatkan pertumbuhan dan biodegradasi yang tinggi.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Leahy, J.C., and R.R. Colwell. 1990. *Microbial Degradation of Hydrocarbon in The Environment*. Microbiology Review. 54: 305 – 315.
2. Lindatrom, J.E., R.C. Clark, M.J. Grossman, T.R. Yeager, J.F. Braddock, and E.J. Brown. 1991. *Microbial Population and Hydrocarbon Biodegradation Potential in Fertilized Shoreline Sediments Affected by The T/V Exxon Valdez oil Spill*. Applied and Environment Microbiology. 57: 2515 – 2522.
3. Geyer, R.A. 1980. *Marine Environment Pollution I Hydrocarbon*. Elsevier Scientific Publishing Company. Amsterdam. Oxford. New York.
4. Atlas, R.M. 1992. *Petroleum Microbiology*. dalam: Joshua Laderberg (Ed) *Encyclopedia of Microbiology*. Vol. 3. Academic Press Inc.
5. Rheinheimer, G. 1999. *Aquatic Microbiology*. 4th edition. John Willeyand sons. Chichester. New York. Brisbane. Toronto. Singapore.
6. Atlas, R.M., and R. Bartha. 1972. *Degradation and Mineralization of Petroleum by Two Bacteria Isolated from Coastal Waters*. Biotechnology and Bioengineering. Vol. XIV. P. 297 – 308.
7. Connel, D.W., G.J. Miller. 1993. *Kimia dan Ekotoksikologi Pencemaran*. Penerbit UI. Jakarta.
8. Pasthuma, J., 1997. *The Composition of Petroleum*. Rapp p – v Reun Cons int. Explor. Mer. 171: 7 – 16.
9. Farrington, J.W., J.M. Teal and P.L. Parkel. 1976. *Petroleum Hydrocarbon. Strategis Marine Pollution Monitoring*. Wiley Interscience publication. New York. London. Sidney. Toronto.
10. National Academy of Science. 1975. *Petroleum in The Marine Environment*. Washington DC.
11. Bertrand, J.C. 1987. *The Potential Aplication of Bisurfactants in Combatting Hydrocarbon Pollution in Marine Environments*. Centre d'Oceanologie de Maseille (OSU), URA 41; Campus de Luminy 163, Rte de Luminy, Case 910, 13288 Marseille Cedex 9.

12. Taylor, B.F. 1992., *Marine Habitats, Bacteria*. Dalam: Joshua Ledeberg (Ed) Encyclopedia of Microbiology. Vol. 3. Academic Press Inc.
13. Moriaty, D.J.W., and A.C. Hayward. 1982. *Ultrastructure of Bacteria and The Proportion of Gram Negative Bacteria in The Marine Sediment*. Microbiology Ecology. 8: 1 – 4.
14. Salle, A. J. 1961. *Fundamental Principles of Profesor of Bacteriology*. University of California. Los Angeles. Mc Grow – Hill Book Company Inc. New York.
15. Atlas, R.M. 1981. *Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbon on Environmental Perspective Microbial*. Review. 45: 180 – 209.
16. Bollag, W.B., and J.M. Bollag. 1992. *Biodegradation*. Dalam: Joshua Laderberg (Ed) Encyclopedia of Microbiology. Vol. 3. Academic Press Inc.
17. Capone, D.G., and Bauer, J.E. *Microbial Processes in Coastal Pollution*. Dalam: Ralph Mitchell Environmental Microbiology. A. John Wiley & Sons, Inc. Publication New York-Chichester. Brisbane. Toronto. Singapore.
18. Bartha, R. 1986. *Biotechnology of Petroleum Pollutant Biodegradation*. Microbiology Ecology. 12: 155 – 177.
19. Husain, D.R., Groutx, M., Bezac, C., Gilewicz, M., and Betrand, J.C. 1997. *Morphological Adaptation of Pseudomonas nautica Strain 617 to Growth on Eicosane and Modes of Eicosane Uptake*. Letters in Applied Microbiology 24: 55 – 58.
20. Hadioetomo, R.S. 1985. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek*. PT Gramedia. Jakarta.
21. Lay, B.W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
22. Sopacua, E.I., 1998. *Isolasi Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon Dari Perairan Pare-Pare*. Skripsi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. UNHAS.
23. Pelczar, M.J., E.C.S. Chan and N.R. Krieg, 1986., *Microbiology*. Fifth Edition. Mc Graw-Hill Book Company.

24. Sclegel., Hans G., 1994. *Mikrobiologi Umum*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
25. Austin, B., 1993. *Marine Microbiology*. Cambrige University Press.