

**BIODEGRADASI PETROLEUM OLEH BAKTERI DARI
PERMUKAAN AIR SUNGAI TALLO MAKASSAR**



ANDI LISNA

H41100922



PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS HASANUDDIN	
Tgl. Terima	17-5-05
Asal Dari	Fale-Mipa
Banyaknya	1 (satu) dly
Harga	H.
No. Inven.	263/175-05
No. K...	

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

2005



**BIODEGRADASI PETROLEUM OLEH BAKTERI DARI PERMUKAAN AIR
SUNGAI TALLO MAKASSAR**

OLEH :

ANDI LISNA

H41100022

SKRIPSI

*Sebagai salah satu tugas akhir dan syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains pada
program studi Biologi*

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

2005

LEMBAR PENGESAHAN

Oleh :

ANDI LISNA

H41100022

DISE TUIJUI OLEH :

PEMBIMBING UTAMA



DR. Hj. Dirayah R. Husain, DEA
NIP: 131 570 872

PEMBIMBING PERTAMA



Drs. Beddu Jawahir, Mei
NIP: 130 288 861

Pada tanggal :



PRAKATA

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Alhamdulillah, puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, atas rahmat, berkah dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul "Biodegradasi Petroleum Oleh Bakteri Dari Permukaan Air Sungai Tallo Makassar", yang merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan jenjang studi Strata Satu (S1) pada Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.

Penulisan tugas akhir ini dapat terlaksana dengan baik berkat bimbingan, dorongan dan bantuan dari berbagai pihak, oleh karenanya melalui penulisan tugas akhir ini, penulis dengan segala kerendahan hati ingin menyampaikan rasa terimakasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Ibu DR.Hj. Dirayah Rauf Husain, DEA selaku Ketua Jurusan Biologi dan Pembimbing Utama. Bapak Drs. Beddu Jawahier, Msi selaku Pembimbing Pertama yang secara bersama-sama dengan begitu sabar telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran dan nasehat untuk membimbing dan mengarahkan penulis mulai dari penyusunan proposal hingga selesainya tugas akhir ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Bapak Drs. As'adi Abdullah, Msi sebagai penasehat akademik yang telah membimbing penulis dalam akademik.

Pada kesempatan ini penulis juga ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada :

- Bapak dekan F.MIPA Universitas Hasanuddin beserta staf yang telah memberikan bantuan kepada penulis selama mengikuti pendidikan.
- Dosen dan staf Jurusan Biologi F.MIPA Universitas Hasanuddin yang telah memberikan bantuan dan bimbingan kepada penulis selama mengikuti pendidikan.
- Kepada rekan-rekan Mahasiswa Biologi khususnya angkatan 2000 yang tak dapat disebutkan satu per satu, atas segala dukungan, doa, kebersamaan, canda tawa dalam suka dan duka serta segala kenangan yang tak terlupakan.
- Rekan-rekan sepenelitian atas kerjasama dan bantuannya selama melakukan penelitian.

Terkhusus penulis mengucapkan terimakasih yang tak terhingga kepada Ayahanda Andi Ujeng Tenri, Ibunda Andi Darwiah serta seluruh saudaraku yang tak pernah lelah memberikan dukungan, doa dan kasih sayang selama penulis menempuh pendidikan hingga selesainya tugas akhir ini.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan tugas akhir ini masih jauh dari kesempurnaan, untuk itu dengan segala kerendahan hati penulis sangat menghargai adanya kritik dan saran.

Makassar, Januari 2005

Penulis

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai Biodegradasi Petroleum oleh Bakteri dari Permukaan Air Sungai Tallo Makassar. Penelitian bertujuan untuk mengetahui kapasitas biodegradasi secara kualitatif dan kuantitatif dari populasi bakteri Sungai Tallo Makassar dalam mendegradasi petroleum. Uji pertumbuhan dilakukan dalam dua tahap yaitu tahap prakultur sebagai tahap adaptasi bakteri dan tahap kultur. Pada tahap kultur diamati perubahan warna kultur dan kondisi substrat petroleum jenis Sahara yang berkurang. Dari hasil analisis kuantitatif diperoleh persentase biodegradasi petroleum untuk kultur bakteri dari stasiun I sebanyak 30,95 %, stasiun II sebanyak 31,16 % dan stasiun III sebanyak 30,62 %. Hasil analisa kualitatif, kultur bakteri dari stasiun I, II dan III mempunyai kemampuan memutuskan rantai karbon n-alkana

Kata kunci : Biodegradasi, Kualitatif dan kuantitatif, petroleum.

ABSTRACT

A research on the Biodegradation of Petroleum by Bacteria from The Surface water of Tallo River was conducted. The aim of the research was to know the capacity of biodegradation of bacteria population degraded petroleum from Tallo River Makassar by using qualitative and quantitative methods. Growth test was used in two phase, preculture phase as adaptation phase for bacteria and culture phase. On culture phase was observed the change of the colour and condition culture from petroleum substrate of Sahara type which decrease. The result of quantitative analyse have obtained the petroleum biodegradation percentration for bacteria culture from station I has 30,95 %, station II has 31,16 %, and station III has 30,62 %. The qualitative analyse, bacteria culture from station I, station II, and station III have ability to separate enchain of the carbon n-alkana.

Keywords : Biodegradation, quantitative, qualitative, petroleum

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Judul.....	i
Lembar Pengesahan.....	ii
Prakata.....	iii
Abstrak.....	v
Abstract.....	vi
Daftar Isi.....	vii
Daftar Gambar.....	x
Daftar Tabel.....	xi
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
I.1 Latar Belakang.....	1
I.2 Tujuan Penelitian.....	3
I.3 Waktu dan Tempat Penelitian.....	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1 Tinjauan Umum Petroleum.....	4
II.2 Tinjauan Umum Hidrokarbon.....	4
II.2.1 Hidrokarbon Alifatik.....	5
II.2.2 Hidrokarbon Aromatik.....	5
II.3. Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon.....	6
II.4 Faktor-faktor yang berpengaruh pada Biodegradasi.....	6

II.5 Penanggulangan Polusi Minyak Bumi.....	3
II.6 Proses Penanganan Limbah Hidrokarbon Secara Biologis.....	9
II.6.1 Proses Aerob.....	9
II.6.2 Proses Anaerob.....	10
II.7 Distribusi Mikroorganisme Pendegradasi Hidrokarbon.....	10
II.8 Dampak Biologi dari Tumpahan Minyak di Lingkungan perairan.....	11
BAB III. METODE PENELITIAN.....	12
III.1 Lokasi Penelitian	12
III.2 Alat dan Bahan.....	12
III.2.1 Alat-alat Yang Digunakan Dalam Penelitian.....	12
III.2.2 Bahan-bahan Yang Digunakan Untuk Analisa Mikrobiologi.....	13
III.3 Prosedur Kerja.....	14
III.3.1 Metode Sampling.....	14
III.3.2 Sterilisasi Alat.....	14
III.3.3 Pembuatan Media Kompleks padat.....	14
III.3.4 Pembuatan Larutan.....	15
III.3.4.1 Pembuatan larutan K_2HPO_4	15
III.3.4.2 Pembuatan larutan $FeSO_4$	15
III.3.5 Pembuatan Larutan untuk Pemeriksaan Sampel.....	15
III.3.5.1 Gram A (Larutan Huecker Kristal violet).....	16
III.3.5.2 Gram B (Larutan Mordan Lugol).....	16
III.3.5.3 Gram C (Larutan Alkohol Aceton).....	16



III.3.5.4 Gram D (Larutan Safranin).....	17
III.3.6 Teknik penanaman Bakteri.....	17
III.3.7 Teknik Ekstraksi Hidrokarbon dan Analisa Kapasitas Biodegradasi Bakteri.....	18
III.3.8 Analisis Data.....	19
III.4 Isolasi Bakteri dari Kultur.....	20
III.4.1 Isolasi dan Pemiakan Bakteri.....	20
III.5 Pengecatan Gram	21
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	22
IV.1 Gambaran Umum Lokasi Penelitian	22
IV.2 Kultur Dengan Substrat Petroleum Jenis Sahara.....	23
IV.3 Pertumbuhan Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon	27
IV.4 Analisa Biodegradasi Secara Kuantitatif.....	30
IV.5 Analisa Biodegradasi Secara Kualitatif.....	31
IV.6 Pertumbuhan Bakteri Pada Media Kompleks padat.....	35
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	37
V.1 Kesimpulan	37
V.2 Saran	37
DAFTAR PUSTAKA.....	38
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kondisi Kultur Sampel air pada Awal Inkubasi	26
2. Kondisi Kultur Sampel air pada Akhir Inkubasi.....	27
3. Kurva Pertumbuhan bakteri pendegradasi hidrokarbon dari perairan Sungai Tallo Makassar.....	29
4. Kromatogram Kultur pada Kontrol.....	32
5. Kromatogram Kultur pada Stasiun I.....	33
6. Kromatogram Kultur pada Stasiun II	33
7. Kromatogram Kultur pada Stasiun III.....	34
8. Pertumbuhan Komunitas Bakteri dari Perairan Sungai Tallo Makassar pada media Kompleks padat dengan Metode tuang.....	36
9. Koloni Bakteri pada Media Kompleks Padat.....	36

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Parameter Lingkungan dari Perairan Sungai Tallo Makassar.....	22
2. Hasil Pengamatan secara Visual Perubahan Warna Kultur selama waktu Inkubasi dari Perairan Sungai Tallo Makassar.....	24
3. Hasil Pengukuran Pertumbuhan Bakteri Selama Waktu Inkubasi.....	28
4. Hasil Analisa Kuantitatif Hidrokarbon (Ekstrak) Petroleum Jenis Sahara	31
5. Karakteristik Morfologi Koloni dan Sel Bakteri	35

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Polusi oleh minyak bumi sering terjadi di lingkungan perairan maupun darat. Polusi minyak bumi tersebut dapat terjadi secara tidak sengaja, misalnya oleh karena kecelakaan kapal tanker minyak bumi, atau karena faktor kesengajaan (misalnya sebagai akibat adanya perang teluk pada tahun 1990-1991) dan pembuangan limbah hidrokarbon dari berbagai aktifitas industri dan rumah tangga (Martani, 1992).

Polusi minyak bumi berdampak terhadap organisme dan ekosistem umumnya. Lapisan minyak yang mengapung di perairan, dapat membunuh burung, berbagai jenis ikan, dan invertebrata lainnya, sebab minyak bumi mengandung senyawa alifatik dan aromatik yang bersifat toksik (Martani, 1992).

Akumulasi senyawa hidrokarbon akan dapat menjadi sumber pencemar utama di perairan (Connel, *et.al*, 1982). Senyawa hidrokarbon yang tersebar di seluruh lautan, atmosfer, dan daratan dapat berasal dari minyak bumi atau sumber-sumber lain, misalnya mikroorganisme dan pirolisis (Mallins, 1977; Siahaan, 2000). Oleh karena itu perlu dilakukan tindakan yang lebih efektif dan efisien dalam mengatasi limbah yang ditimbulkan oleh produk minyak bumi. Salah satu metode paling cepat untuk mengatasi atau mengeliminasi senyawa hidrokarbon yang terkandung dalam minyak bumi adalah dengan proses biodegradasi.

Biodegradasi adalah proses penguraian senyawa organik (hidrokarbon) yang melibatkan mikroorganisme (Hadi, 2003). Biodegradasi hidrokarbon oleh mikroorganisme merupakan salah satu mekanisme yang utama dalam mengeliminasi pencemaran hidrokarbon dari lingkungan (Lederberg, 1992). Biodegradasi hidrokarbon oleh mikroorganisme adalah merupakan peristiwa oksidasi biologi dan kebanyakan mikroorganisme yang melakukannya adalah jenis mikroorganisme aerobik (Tramier dan Sirvins, 2001). Biodegradasi minyak adalah proses biologi yang diperkenalkan oleh Zobell sejak tahun 1973. Sejak itu terdapat 70 genera mikroorganisme yang dikenal dapat memetabolisme hidrokarbon, termasuk diantaranya 28 genera bakteri, 30 genera fungi dan 12 genera yeast. Dari semua mikroorganisme tersebut, golongan bakteri dianggap paling berperan dalam mendegradasi hidrokarbon (Austin, 1993).

Kelompok yang mewakili mikroorganisme yang dapat mengoksidasi petroleum hidrokarbon yang telah ditemukan oleh Zobell terdiri dari *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Pseudomonas*, *Sphaerotilus natans*, *Vibrio*, *Candida*, *Cladosporium*, *Rhodotorula*, *Sporobolomyces*, *Torulopsis*, dan *Trichosporium* (Austin, 1993). Sedangkan Fuhs (1961) telah berhasil mengisolasi hidrokarbon yang terdapat di sedimen, danau dan kolam. Pada kondisi yang sesuai hampir semua hidrokarbon dapat dihancurkan oleh mikroorganisme. Bakteri pendegradasi tersebut didominasi oleh beberapa genera yaitu *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Spirillum*, *Flavobacterium*, *Achromobacter*, *Bacillus* dan *Nocardia*.

Mikroorganisme menggunakan minyak yang tercemar sebagai sumber karbon dan energi. Pada akhirnya, minyak didegradasi menjadi karbondioksida dan air (Rheinheimer, 1991).

I.2 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kapasitas biodegradasi kualitatif dan kuantitatif dari populasi bakteri Sungai Tallo Makassar dalam mendegradasi petroleum.

I.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian berlangsung dari bulan September 2004 sampai bulan Desember 2004. Pengerjaan sampel (pertumbuhan bakteri dan ekstraksi) dilakukan di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin. Analisa Kuantitatif serta analisa Kualitatif biodegradasi dilakukan di laboratorium Kimia Organik Sintesa Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Tinjauan Umum Petroleum

Minyak bumi (petroleum) terbentuk dari peluruhan tumbuhan dan hewan, yang tertimbun selama berjuta tahun di dalam tanah, baik di daerah daratan ataupun di daerah lepas pantai. Minyak bumi mentah, atau minyak mentah, adalah campuran rumit senyawa alifatik dan aromatik, termasuk pula senyawa sulfur dan nitrogen (1 – 6%) (Fessenden, 1992). Di dalam minyak bumi terdapat dua macam komponen yang dibagi berdasarkan kemampuan mikroorganisme menguraikannya, yaitu komponen minyak bumi yang mudah diuraikan oleh mikroorganisme dan komponen yang sulit didegradasi oleh mikroorganisme (Hadi, 2003). Minyak bumi mentah mengandung campuran rumit hidrokarbon serta sejumlah kecil relatif senyawa yang mengandung nitrogen, sulfur, dan oksigen, aspal, dan berbagai logam runtuhan (bentuk terkompleks dan tidak terkompleks) (Kallio, 1976; Posthumus, 1977; Connel dan Miller, 1995).

II.2 Tinjauan Umum Hidrokarbon

Petroleum adalah campuran senyawa kompleks yang terdiri atas ribuan senyawa yang berbeda. Senyawa tersebut terdiri atas n-alkana, iso-alkana, sikloalkana, aromatik, naphthenoaromatik, heterosiklik (resin) dan asphaltene (Austin, 1993).

Hidrokarbon merupakan senyawa yang terdiri dari karbon dan hidrogen (Siahaan, 2000). Hidrokarbon dapat dibagi menjadi dua kelas sehubungan dengan struktur kimianya: alkana (n-normal, bercabang, dan siklo) serta senyawaan aromatis (naftaeno; mono-, di-, dan poly, misalnya PAH) (Connel dan Miller, 1995).

II.2.1 Hidrokarbon Alifatik

Mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon rantai lurus dalam minyak bumi ini jumlahnya lebih besar dibanding mikroba pendegradasi hidrokarbon aromatik, diantaranya adalah *Nocardia*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, khamir tertentu, dan jamur. Mikroorganisme ini menggunakan hidrokarbon tersebut untuk pertumbuhannya. Penggunaan hidrokarbon alifatik jenuh merupakan proses aerobik (menggunakan oksigen). Tanpa adanya O_2 , hidrokarbon ini tidak didegradasi oleh mikroba (sebagai pengecualian adalah bakteri pereduksi sulfat) (Hadi, 2003).

II.2.1 Hidrokarbon Aromatik

Senyawa ini digunakan sebagai donor elektron secara aerobik oleh mikroorganisme seperti bakteri dari genus *Pseudomonas*. Metabolisme senyawa ini, oleh bakteri diawali dengan pembentukan Protocatechuate atau catechol atau senyawa yang secara struktur berhubungan dengan senyawa hidrokarbon aromatik. Kedua senyawa ini (protocatechuate dan catechol) selanjutnya didegradasi menjadi senyawa yang dapat masuk ke dalam siklus Krebs (siklus asam sitrat), yaitu suksinat, asetil CoA, dan piruvat (Hadi, 2003).

II.3 Bakteri Peudegradasi Hidrokarbon

Degradasi minyak bumi oleh aktifitas mikroorganisme memegang peranan besar dalam proses perubahan ataupun pengurangan konsentrasi minyak bumi yang mencemari lingkungan. Jenis mikroorganisme yang akan aktif dalam proses biodegradasi senyawa polutan minyak bumi sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan. Misalnya, yang aktif dalam ekosistem air tawar adalah bakteri, yeast dan jamur. Tetapi dalam lingkungan tanah, bakteri dan jamur akan mendominasi proses degradasi (Martani, 1992).

Mikroorganisme menggunakan minyak pencemar sebagai sumber karbon dan energi. Pada akhirnya, minyak didegradasi menjadi karbondioksida dan air. Kelompok yang mewakili dari mikroorganisme yang dapat mengoksidasi petroleum hidrokarbon terdiri dari *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Bacterium*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Enterobacter*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Fenicillium*, *Pseudomonas*, *Sarcina*, dan *Serratia* (Kennish, 1992).

Kecepatan biodegradasi pada kondisi optimal laboratorium yaitu 2500-100.000 g m⁻³ per hari, sedangkan pada kondisi in-situ kecepatan biodegradasi petroleum lebih rendah yaitu 0,001-60 g m⁻³ per hari (Atlas, 1991).

II.4 Faktor-faktor yang berpengaruh pada Biodegradasi

Biodegradasi minyak adalah proses yang sangat lambat dan terbatas oleh beberapa faktor, yaitu (Tramier dan Sirvins, 2001) :



a. Komposisi dari minyak

Diantara beberapa komponen minyak bumi, hidrokarbon aromatik lebih sedikit dioksidasi oleh mikroorganisme dari pada hidrokarbon alifatik. Perombakan oleh mikroorganisme umumnya meningkat melalui beberapa tahap: n-alkana, i-alkana, sikloalkana, dan aromatik. Jadi, komposisi dari minyak mempengaruhi proses degradasi (Kennish, 1992).

b. Oksigen

Oksigen yang terkandung di dalam air, menurut Zobel tiga sampai empat miligram dari oksigen terlarut adalah penting untuk mengubah satu miligram dari hidrokarbon menjadi CO_2 dan H_2O di laut. Faktor ini merupakan faktor pembatas dimana 5,8 mg/ltr dari oksigen terlarut telah ditemukan di perairan laut (Tramier dan Sirvins). Ketersediaan O_2 sangat sering menjadi faktor pembatas dalam proses biodegradasi. Walaupun, biodegradasi dengan menggunakan bahan organik dapat terjadi dibawah kondisi anaerob tanpa kehadiran O_2 , namun jumlahnya tidak seperti pada kondisi aerob (Hurst dkk, 2001).

c. Suhu

Aktivitas biologi dihubungkan dengan suhu, karena itu terdapat perbedaan yang mungkin terjadi di perairan Artik hingga perairan tropik akan kandungan O_2 dan suhu. Kandungan oksigen meningkat ketika suhu menurun. Suhu yang tinggi dapat meningkatkan kecepatan dari metabolisme hidrokarbon yaitu pada suhu 30° - 40° C (Atlas, 1991).

d. Ketersediaan Nutrisi

Nutrisi dapat merupakan faktor pembatas di dalam laut. Di sekitar lapisan minyak terdapat karbon yang tersedia, tetapi nitrogen dan fosfor yang dibutuhkan oleh aktivitas mikroorganisme kurang. Biodegradasi minyak dapat ditingkatkan dengan menambahkan nutrisi ke genangan minyak. Karakteristik utama dari nutrisi ini adalah harus dapat oleophilic, jadi dapat berada pada permukaan minyak dan air (Tramier dan Sirvins, 2001). Pada lingkungan perairan yang tercemar oleh minyak bumi, konsentrasi nutrisi anorganik sangat rendah, O_2 atau keduanya biasanya berada diantara permukaan air dan polutan terlarut. Menurut Jamison, *dkk* (1975) penambahan N dan P pada sampel air tawar menunjukkan adanya rangsangan terhadap pertumbuhan bakteri (Alexander, 1959).

II.5 Penanggulangan Polusi Minyak Bumi

Penanggulangan polusi minyak bumi dapat dilakukan dengan berbagai cara, antara lain (Martani, 1992):

a. Secara Fisik

Penanggulangan secara fisik dilakukan dengan penjaringan lapisan minyak yang mengapung. Hal ini mempunyai konsekuensi penyediaan sarana-prasarana pembuangan minyak bumi yang bersangkutan, yang apabila jumlah polutan meliputi jutaan metrik ton tentu akan menimbulkan masalah baru.

b. Secara Kimia

Penanggulangan secara kimia dilakukan dengan penggunaan senyawa dispersan atau surfaktan. Akan tetapi, dalam beberapa kasus, misalnya dalam kasus

kecelakaan kapal tangki Torrey Canyon di sekitar tahun 1965, dispersi justru dapat menimbulkan dampak negatif yang justru lebih tinggi dibandingkan dengan polusi minyak itu sendiri. Beberapa dispersan mengandung senyawa kimia yang menghambat aktivitas mikroba. Sebenarnya, tanpa adanya sifat toksik tersebut, dispersi ini akan meningkatkan biodegradasi minyak bumi.

c. Secara Mikrobiologis

Hal ini dilakukan dengan usaha menginokulasi mikroba pendegradasi minyak bumi, atau divariasikan dengan usaha tertentu dengan tujuan untuk meningkatkan pertumbuhan dan aktivitas mikroba inokulan tersebut (misalnya dengan penambahan nutrisi tertentu yang merupakan faktor pembatas aktivitas mikroba). Cara mikrobiologi ini merupakan salah satu cara yang saat ini dikembangkan oleh beberapa negara maju, seperti Jepang dan Kanada.

II.6 Proses Penanganan Limbah Hidrokarbon secara Biologis

Pada prinsipnya, sistem penanganan limbah cair/hidrokarbon dari industri maupun rumah tangga secara biologis dibedakan dalam dua macam proses, yaitu (Martani, 1992):

II.6.1 Proses Aerob

Mikroorganisme yang berperan akan melakukan aktivitasnya pada lingkungan yang aerob, artinya mereka memerlukan adanya suplai oksigen ke dalam limbah cair yang bersangkutan. Proses ini diaplikasikan dalam penanganan untuk stabilisasi limbah cair. Dalam proses aerob ini mikroorganisme dapat diperlakukan dalam keadaan terdistribusi bebas dalam limbah cair (reaktor

homogen), atau dalam keadaan melekat menjadi suatu bentuk lapisan biologis (biological film) yang terikat atau dilekatkan pada suatu bahan inert dalam substrat cair limbah tersebut (reaktor immobilisasi) (Martani, 1992). Proses aerob yang khas menghasilkan energi yang lebih, jumlah ATP yang lebih besar, dan menghasilkan lebih biomassa per unit campuran yang dipindahkan (Wacket dan Hershberger, 2001).

II.6.2 Proses Anaerob

Kebalikan proses aerob diatas, dalam proses ini mikroorganisme tidak memerlukan suplai oksigen sebagai akseptor elektron. Pada kondisi ini, mikroorganisme dapat menggunakan senyawa karbon organik sebagai akseptor elektron (Martani, 1992). Beberapa mikroorganisme dapat menggunakan bahan-bahan seperti nitrat, sulfat, Fe (III), atau Mn (III) menggantikan O₂ sebagai terminal penerima elektron (Hurst dkk,2001).

II.7 Distribusi Mikroorganisme Peadegradasi Hidrokarbon

Mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon tersebar luas pada laut, air tawar dan habitat tanah. Distribusi mikroorganisme yang menggunakan hidrokarbon menunjukkan adanya hidrokarbon yang nampak atau terdapat pada lingkungan tersebut. Jumlah yang meningkat pada populasi mikroorganisme yang menggunakan hidrokarbon terjadi ketika sampel dari lingkungan tersebut menampakkan adanya petroleum hidrokarbon. Pada umumnya, tingkat populasi yang menggunakan hidrokarbon dan perbandingan mereka di dalam komunitas mikroorganisme muncul sebagai petunjuk yang sensitif pada lingkungan yang

tercemar oleh hidrokarbon. Pada ekosistem yang tidak tercemar, penggunaan hidrokarbon umumnya berkisar $< 0,1\%$ pada komunitas mikroorganisme. Sedangkan pada ekosistem yang tercemar oleh limbah hidrokarbon, penggunaan hidrokarbon dapat berkisar diatas 100 % (Lederberg, 1992).

II.8 Dampak Biologi dari Tumpahan Minyak di Lingkungan Perairan

Dampak dari tumpahan minyak di lingkungan perairan ditinjau dari segi biologinya dapat dilihat sebagai berikut (Connel dan Miller, 1995):

1. Toksisitas Letal

Alkana dalam minyak bumi memperlihatkan toksisitas atau dampak buruk fisiologis yang cukup kecil. Pengaruh ini biasanya disebabkan oleh adanya zat-zat aromatik. Hidrokarbon poliaromatik yang larut di lingkungan perairan bersifat toksik pada makhluk hidup dengan konsentrasi 0,1 sampai 0,5 ppm.

2. Pengaruh Sub Letal

Pengaruh fisiologis dan perilaku yang nyata terjadi pada hewan invertebrata. Hidrokarbon poliaromatik dalam kepekatan rendah telah diperlihatkan menurunkan laju pertumbuhan, perkembangan, dan riakan makhluk hidup di perairan (Neff, 1979) dalam.

3. Bioakumulasi hidrokarbon dalam jaringan tubuh makhluk hidup.

4. Pengurangan keberhasilan berkembang biak dalam beberapa spesies.

5. Connel (1981) menyatakan bahwa minyak bumi yang tertimbun di sedimen dasar menyebabkan kandungan oksigen terlarut berkurang

BAB III

METODE PENELITIAN

III.1 Lokasi Penelitian

Penelitian ini diawali dengan pengambilan sampel air yang berlokasi di perairan sungai Tallo Makassar. Kegiatan yang dilakukan meliputi persiapan penelitian, pengambilan sampel, kultur dan pengujian kapasitas bakteri dalam mendegradasi petroleum serta analisa data.

Pengerjaan sampel (pertumbuhan bakteri dan ekstraksi) dilakukan di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin. Analisa Kuantitatif serta analisa Kualitatif biodegradasi dengan kromatografi gas dari fraksi hidrokarbon dilakukan di laboratorium Kimia Organik Sintesa Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.

III.2 Alat dan Bahan

III.2.1 Alat-alat yang digunakan dalam penelitian adalah :

A. Peralatan Sampling

Botol sampel, termos es, termometer, kertas pH, salinometer.

B. Peralatan untuk Analisa Mikrobiologi

- Kultur dan Pembiakan

Gelas piala, gelas ukur, tabung reaksi, cawan petri (pyrex), objek glass, enkas, autoklaf (All American), oven (Heraeus), jarum ose,

sendok tanduk, alat pemanas, erlenmeyer (Pyrex), pipet ukur, spoit+jarum, dek glass, pengaduk kaca, mikroskop, gunting, bunsen. spatula, shaker, neraca, inkubator (Heraeus).

- Pengamatan Pertumbuhan
- Seperangkat alat spektrofotometer

C. Peralatan untuk Analisa Kimia

- Ekstraksi

Gelas piala, gelas ukur, corong kaca, pipet ukur, pipet tetes, batang pengaduk, erlenmeyer, Rotavapor BUCHHI r-144, corong buchner, corong pisah, suction, elektromentel, pompa vacum., botol sampel, kondensor spiral.

- Kromatografi

Erlenmeyer, botol sampel, pipet ukur, pinset, statif, gelas ukur, Rotavapor BUCHHI r-144, alat kromatografi gas.

III.2.2 Bahan- Bahan yang digunakan untuk Analisa Mikrobiologi

- Kelengkapan

Kapas, kain kasa, tissue, karet gelang, aluminium foil, kertas semilogaritma, kertas keli, label.

- Zat-Zat

Kloroform (CHCl_3), Kalium Hidroksida (KOH), Metanol-KOH, FeSO_4 , K_2HPO_4 , Alkohol, Bactopecton, Ekstrak ragi, Bacto Agar, Spirtus, Glass wall.

- Substrat
- Petroleum jenis Sahara

III.3 Prosedur Kerja

III.3.1 Metode Sampling

Penentuan stasion pengambilan sampel dilakukan berdasarkan letak pengambilan dekat sumber pencemaran hidrokarbon. Sampel diambil pada tiga titik stasion (Lampiran 2). Pengambilan sampel air digunakan botol sampel steril. Setelah dilakukan sampling, selanjutnya disimpan ke dalam wadah pendingin dengan suhu sekitar 4^o C untuk menjaga kestabilan mikroba. Selanjutnya sampel dianalisa di laboratorium dan perlu diperhatikan dalam pengambilan sampel yakni pencatatan kondisi fisik dan kimiawi antara lain suhu, pH, serta warna dari air.

III.3.2 Sterilisasi Alat

Alat-alat yang terbuat dari gelas, kaca, disterilkan menggunakan oven pada suhu 180^o dengan tekanan 1 atm. Sterilisasi basah untuk media dilakukan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121^o C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Sedangkan peralatan lainnya seperti botol sampel dicuci dengan menggunakan alkohol.

III.3.3 Pembuatan Media Kompleks Padat

Bahan media Agar adalah :

- Bactopepton	5 gram/l	- Bacto Agar	20 gram/l
- Ekstrak ragi	5 gram/l	- Aquades	1 liter

Semua bahan ditimbang, lalu dilarutkan dengan aquades dalam erlenmeyer, selanjutnya disterilkan menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C , tekanan 2 atm.

III.3.4 Pembuatan Larutan

III.3.4.1 Pembuatan Larutan K_2HPO_4

Larutan PO_4 , dibuat dari komposisi bahan sebagai berikut :

- K_2HPO_4 1,86 gr
- Aquades 1000 ml

K_2HPO_4 ditimbang, lalu dilarutkan dalam aquades, selanjutnya disterilkan menggunakan otoklaf selama 15 menit, tekanan 2 atm, pada suhu 121°C .

III.3.4.2 Pembuatan larutan FeSO_4

Larutan FeSO_4 , dibuat dari komposisi bahan sebagai berikut:

- FeSO_4 2,78 gr
- Aquades 1000 ml

FeSO_4 ditimbang lalu dilarutkan dalam aquades, lalu disterilkan menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C tekanan 2 atm.

III.3.5 Pembuatan Larutan untuk Pemeriksaan Sampel

III.3.5.1 Gram A (Larutan Hucker Kristal Violet)

Bahan-bahan yang digunakan untuk membuat larutan, adalah sebagai berikut :

- a. Kristal violet (90 %) 2 gr
- Ethanol 95 % 20 ml

b. Amonium oksalat	0,8 gr
Aquades	80 ml

Kristal violet ditimbang lalu dilarutkan dalam ethanol, sedangkan Amonium oksalat dilarutkan dalam aquades. Setelah itu kedua sampel larutan dicampur, lalu disimpan dalam botol tertutup.

III.3.5.2 Gram B (Larutan Mordan Lugol's)

Bahan-bahan yang digunakan untuk membuat larutan, adalah sebagai berikut :

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

Kalium Iodida dilarutkan dalam aquades secukupnya di dalam lumpang, selanjutnya dimasukkan yodium lalu digerus sampai larut, setelah itu dimasukkan aquades 100 ml lalu disimpan dalam botol tertutup.

III.3.5.3 Gram C (Larutan Alkohol aseton)

Bahan-bahan yang digunakan untuk membuat larutan, adalah sebagai berikut :

- Alkohol 96 %	100 ml
- HCl pekat	3 ml

Alkohol 96 % dicampur dengan HCl pekat, kemudian disimpan dalam botol tertutup.

III.3.5.4 Gram D (Larutan Safranin)

Bahan-bahan yang digunakan adalah sebagai berikut :

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

Safranin dilarutkan dalam alkohol 96 % lalu ditambah aquades lalu disimpan dalam botol tertutup.

III.3.6 Teknik Penanaman Bakteri

III.3.6.1 Sampel Air

a. Pembuatan larutan suspensi

Satu ml sampel air dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml aquades steril, lalu dihomogenkan dengan cara dikocok.

b. Tahap Pra Kultur

- Dalam masing-masing erlenmeyer yang telah berisi Aquades 50 ml ditambahkan FeSO_4 dan K_2HPO_4 yang masing-masing sebanyak 0,1 ml dan 0,2 ml. Selanjutnya ke dalam media tersebut diinokulasikan 1 ml sampel dan 1 ml hidrokarbon (petroleum) sebagai sumber karbon. Setelah itu media prakultur dikocok dengan menggunakan alat pengocok "shaker" pada kecepatan 96 rpm. Selanjutnya diinkubasikan selama 7-9 hari pada suhu 30°C - 32°C .

c. Tahap Kultur

- Dalam masing-masing erlenmeyer yang telah berisi media Aquades 10 ml ditambahkan larutan FeSO_4 dan K_2HPO_4 dengan perbandingan 1 : 2. Selanjutnya ke dalam masing-masing media tersebut diinokulasikan 1 ml suspensi mikroba yang diperoleh dari media prakultur dan ditambahkan pula 1 ml petroleum, lalu diinokogenkan kurang lebih 15 menit. Pertumbuhan diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 610 nm, dengan mengambil kurang lebih 1,5 ml media kultur sebagai pengamatan awal (T_0). Bersamaan dengan itu diambil 1 ml media kultur dengan menggunakan metode uang dan metode gores pada media agar, untuk mengetahui morfologi bakteri. Adapun media kultur selama inkubasi berlangsung dikocok secara kontinu dengan menggunakan "shake".
- Bersamaan dengan tahap pengkulturan secara terpisah dibuat kultur lain untuk pengujian kapasitas biodegradasi dengan volume kultur 25 ml.

III.3.6 Teknik ekstraksi hidrokarbon dan analisa kapasitas biodegradasi bakteri

1. Teknik Ekstraksi Hidrokarbon

- Mengambil sampel kultur sebelum diekstraksi sebanyak 25 ml.
- Sampel ditambahkan dengan CHCl_3 dan MeOH-KOH 0,5 N sebanyak 50 ml
- Selanjutnya sampel yang telah direfluks selama 3-4 jam didinginkan lalu disaring dengan menggunakan corong Buchner.

Kemudian filtrat dipisahkan dengan menggunakan corong pisah sebanyak 3 kali (setiap penyaringan ditambahkan kloroform sebanyak 20 ml).

Filtrat dievaporasi dengan rotavapor hingga kering lalu ditimbang beratnya.

2. Analisa Biodegradasi Secara Kuantitatif

Ekstrak Bahan Organik (EBG) yang telah ditimbang beratnya dihitung persentase biodegradasinya dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Persentase Biodegradasi (\%)} = \frac{B1 - (K1 - K2) - B2}{B1} \times 100 \%$$

Keterangan :

B1 = Berat awal petroleum sebagai substrat

B2 = Berat akhir petroleum sebagai substrat

K1 = Berat awal kontrol

K2 = Berat akhir kontrol

3. Analisa Biodegradasi secara Kualitatif

Sampel yang diperoleh dipisah berdasarkan fraksi hidrokarbon yang dikandungnya dengan kolom fraksinasi. Selanjutnya fraksi yang diperoleh diinjeksi ke dalam kromatografi gas.

III.3.7 Analisis Data

Nilai absorbansi dari hasil pengukuran spektrofotometer diplot pada kertas grafik semilogaritma dalam bentuk kurva pertumbuhan. Sehingga dapat diketahui bentuk pertumbuhan dari setiap kolonum bakteri serta kapasitas bakteri dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon.

Persentase degradasi dari senyawa hidrokarbon diperoleh dari hasil pengurangan substrat pada awal inkubasi dan setelah akhir inkubasi melalui proses

ekstraksi. Sedangkan hasil analisis kromatogram dari kromatografi gas diperoleh data dalam bentuk pik. Selanjutnya berdasarkan perbandingan dapat diinterpretasikan pemutusan rantai karbon selama masa inkubasi berlangsung.

III.4 Isolasi Bakteri Dari Kultur

Kultur campuran bakteri yang telah diambil, selanjutnya diencerkan dengan larutan NaCl 0,9 % steril dengan perbandingan 1 : 9. Pengenceran dilakukan secara desimal yaitu 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} . Dari masing-masing pengenceran dipipet 1 ml ke cawan petri steril, sehingga di dalam cawan mengandung biakan campuran sesuai dengan pengenceran yang dilakukan. Selanjutnya dituangkan medium kompleks padat yang telah didinginkan, lalu dihomogenkan dengan cara menggoyang cawan petri ke kanan 8 kali dan kekiri 8 kali. Setelah medium memadat diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam dengan cara tertalik. Dilanjutkan dengan pengamatan koloni yang tumbuh.

III.4.1 Isolasi dan Pemiakan bakteri

Koloni bakteri yang tumbuh pada cawan petri, diamati morfologinya seperti warna, bentuk dan struktur koloni. Kemudian diisolasi koloni yang berbeda dan dipindahkan dengan cara goresan pada cawan petri yang mengandung medium kompleks padat, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya digoreskan pada medium agar miring di tabung reaksi sebagai biakan murni dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

III.5 Pengecatan Gram

Setiap isolat yang diperoleh di bubuhkan cat Gram A sebanyak 3 tetes dan dibiarkan selama 1 menit, dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan dengan dianginkan. Lalu ditetesi dengan gram B, dibiarkan selama 1 menit dan dicuci dengan air mengalir, dikeringanginkan. Ditetesi cat Gram C, dibiarkan selama 20 detik dan dicuci dengan air mengalir, kemudian dikeringanginkan. Terakhir ditetesi dengan cat Gram D dan dibiarkan selama 2 menit. Lalu dicuci dengan air mengalir dan dikeringanginkan. Lalu diamati di bawah mikroskop pada pembesaran 1000 X dengan menggunakan minyak imersi.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Gambaran Umum Lokasi Penelitian

Pada penelitian ini sampel air yang diteliti diambil dari perairan sungai Tallo Makassar. Sampel air diambil pada 3 stasiun. Stasiun I terletak pada daerah yang merupakan tempat pembuangan dari limbah rumah tangga, yang mana pada daerah tersebut penduduk yang berada di sekitar sungai menggunakan air sungai untuk mencuci, mandi, bahkan ada yang membuang langsung sampah ke sungai. Untuk stasiun II terletak pada daerah yang merupakan tempat pembuangan limbah industri dari PT Kima. Sedangkan stasiun III merupakan daerah yang aliran sungainya dialiri air dari limbah industri dan limbah rumah tangga. (Lampiran 2)

Parameter lingkungan dari lokasi pengambilan sampel air yang dicatat dapat dilihat pada tabel berikut ini :

Tabel 1. Parameter lingkungan dari perairan sungai Tallo Makassar

Parameter Lingkungan	Stasiun I	Stasiun II	Stasiun III
Salinitas (‰)	18	18	18
Temperatur (°C)	32	32	32
pH	6,5	6,5	7
Warna	Kecoklatan, bau menyengat	Kecoklatan, bau menyengat	Kehitaman, bau sangat menyengat

IV.2 Kultur dengan substrat petroleum jenis Sahara

Hasil pengamatan secara visual perubahan warna kultur dan kondisi substrat petroleum jenis Sahara selama waktu inkubasi dari perairan Sungai Tallo Makassar dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengamatan secara Visual Perubahan Warna Kultur selama Waktu Inkubasi dari Perairan Sungai Tallo Makassar

Waktu inkubasi (jam)	Stasion	Pengamatan	
		Warna Kultur	Kondisi Petroleum
T0 (0)	1	Bening	100 % petrol menyebar di permukaan
	2	Bening	100 % petrol menyebar di permukaan
	3	Bening	100 % petrol menyebar di permukaan
T1 (24)	1	Bening	Sebagian kecil petrol melekat pada dinding erlenmeyer
	2	Bening	Sebagian kecil petrol melekat pada dinding erlenmeyer
	3	Bening	Sebagian kecil petrol melekat pada dinding erlenmeyer
T2 (48)	1	Agak keruh	+10 % petrol berkurang, sebagian melekat pada dinding erlenmeyer
	2	Agak keruh	+20 % petrol berkurang, sebagian melekat pada dinding erlenmeyer
	3	Agak keruh	+10 % petrol berkurang, sebagian melekat pada dinding erlenmeyer
T6 (144)	1	Agak keruh	+20 % petrol berkurang, sebagian melekat pada dinding erlenmeyer
	2	Agak keruh	+30 % petrol berkurang, sebagian melekat pada dinding erlenmeyer
	3	Agak keruh	+20 % petrol berkurang, sebagian melekat pada dinding erlenmeyer
T10 (240)	1	keruh	+40 % petrol berkurang, sebagian melekat pada dinding erlenmeyer
	2	keruh	+50 % petrol berkurang, sebagian melekat pada dinding erlenmeyer
	3	keruh	+40 % petrol berkurang, sebagian melekat pada dinding erlenmeyer
T15 (360)	1	Kuning keruh	+70 % petrol berkurang, sedikit melekat pada dinding erlenmeyer
	2	Kuning keruh	+70 % petrol berkurang, sedikit melekat pada dinding erlenmeyer
	3	Krem	+60 % petrol berkurang, dinding erlenmeyer nampak bersih dari petroleum

Dari hasil pengamatan secara visual, dapat dilihat adanya pertumbuhan dari bakteri pendegradasi hidrokarbon yang diperoleh dari setiap stasiun. Pertumbuhan bakteri pendegradasi hidrokarbon dapat dideteksi dengan terjadinya perubahan warna pada media kultur, dimana media kultur pada masa awal inkubasi nampak bening tetapi setelah inkubasi selama 48 jam media kultur berubah menjadi agak keruh apabila dibandingkan dengan kontrol yang tetap bening karena tidak diinokulasi oleh bakteri. Pengamatan yang dilakukan secara visual menyangkut warna kultur dan kondisi petroleum cenderung subjektif. Namun pengamatan ini dilakukan untuk menjelaskan dan menggambarkan kondisi pertumbuhan bakteri yang dibandingkan dengan kontrol.

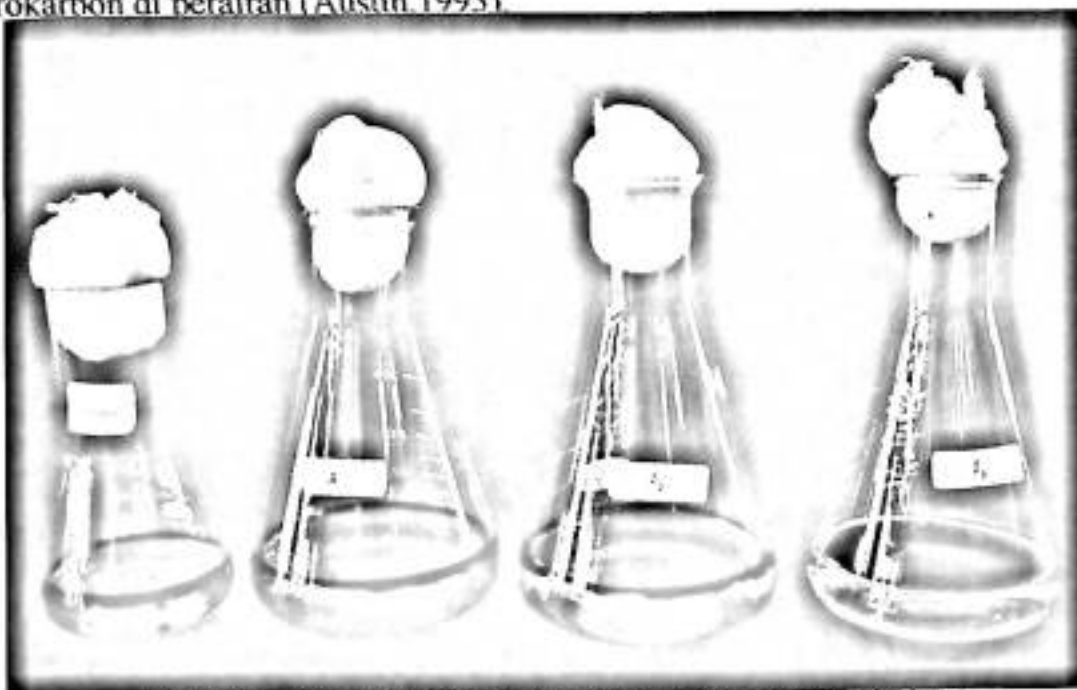
Perubahan warna kultur dan kondisi petroleum mengalami peningkatan setelah 240 jam masa inkubasi dimana warna kultur dari tiap stasiun berubah menjadi keruh dan petroleum yang berkurang sebanyak $\pm 40\%$ pada stasiun I dan III sedangkan pada stasiun II petroleum berkurang sebanyak $\pm 50\%$.

Pada masa akhir inkubasi nampak perubahan warna kultur menjadi kuning keruh terjadi pada stasiun I dan II, sedangkan pada stasiun III warna kultur berubah menjadi krem. Pengurangan petroleum sebanyak $\pm 70\%$ terjadi pada stasiun I dan II, untuk stasiun III petrol berkurang sebanyak $\pm 60\%$. Pada dinding erlenmeyer dari stasiun III nampak bersih dimana tidak nampak lagi adanya petroleum yang melekat pada dinding erlenmeyer. Hal ini disebabkan oleh karena di dalam kultur terdapat bakteri yang dapat mendegradasi hidrokarbon dan bersifat pengemulsi.

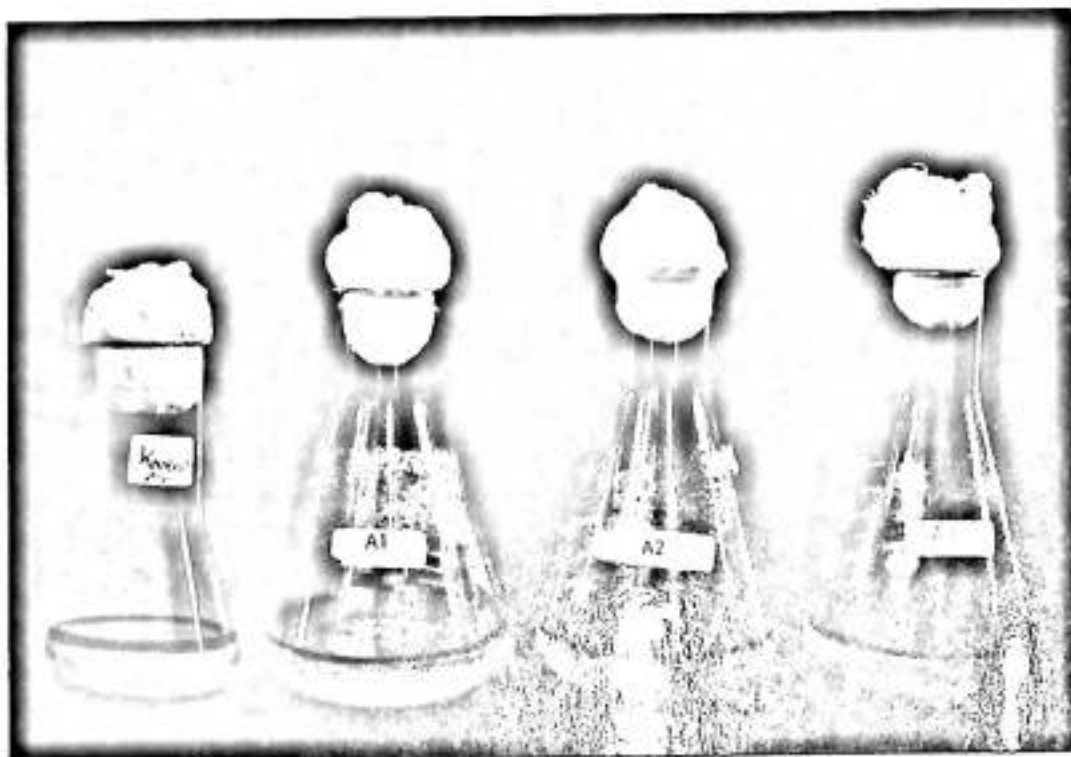
Zat yang bersifat pengemulsi mengakibatkan tidak melekatnya petroleum pada dinding erlenmeyer. Zat yang bersifat pengemulsi atau emulsan adalah senyawa yang dapat dihasilkan oleh bakteri yang ditumbuhkan pada substrat hidrokarbon, senyawa tersebut dapat menurunkan tegangan permukaan antara air dan minyak, sehingga memungkinkan terjadinya proses pencampuran antara keduanya.

Menurut Husain, *dkk* (1997), mikroba yang tumbuh pada substrat yang mengandung senyawa hidrokarbon dapat mensekresikan senyawa yang bersifat pengemulsi dan dikenal dengan nama "biosurfaktan".

Ramibeloarisoa (1984), mengemukakan bahwa pertumbuhan bakteri pendegradasi hidrokarbon mendorong produksi "biosurfaktan" yang dapat mengemulsi substrat. Adanya biosurfaktan sangat penting untuk mengeliminasi hidrokarbon di perairan (Austin, 1993).



Gambar : Kondisi kultur sampel air pada awal inkubasi



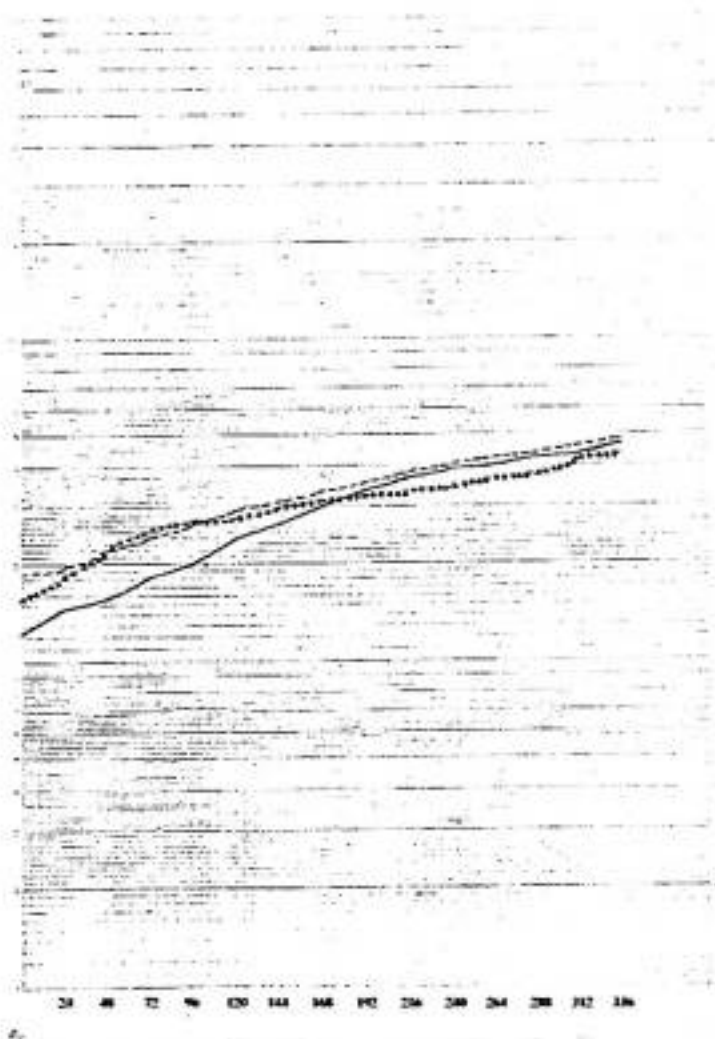
Gambar. Kondisi kultur sampel air pada akhir inkubasi

IV.3 Pertumbuhan Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon

Pengukuran pertumbuhan bakteri pendegradasi hidrokarbon selama waktu inkubasi dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 610 nm. Selanjutnya hasil pengukuran absorbansi diplot pada kertas semilogaritma untuk dibuat kurva pertumbuhannya. Hasil pengukuran pertumbuhan dapat dilihat pada tabel 3 berikut:

Tabel 3. Hasil Pengukuran Pertumbuhan Bakteri Selama Waktu Inkubasi

Waktu inkubasi (jam)	Stasiun	Pengukuran
		Nilai Absorbansi
T0 (0)	1	0,125
	2	0,187
	3	0,155
T1 (24)	1	0,143
	2	0,194
	3	0,187
T2 (48)	1	0,151
	2	0,220
	3	0,221
T3 (72)	1	0,180
	2	0,240
	3	0,252
T4 (96)	1	0,201
	2	0,263
	3	0,268
T5 (120)	1	0,237
	2	0,292
	3	0,276
T6 (148)	1	0,268
	2	0,310
	3	0,301
T7 (168)	1	0,305
	2	0,337
	3	0,310
T8 (192)	1	0,337
	2	0,357
	3	0,328
T9 (216)	1	0,367
	2	0,377
	3	0,377
T10 (240)	1	0,390
	2	0,393
	3	0,349
T11 (264)	1	0,398
	2	0,420
	3	0,367
T12 (288)	1	0,420
	2	0,432
	3	0,377
T13 (314)	1	0,432
	2	0,456
	3	0,420
T14 (336)	1	0,456
	2	0,469
	3	0,432



Keterangan : _____ = stasiun 1
 - - - - - = stasiun 2
 = stasiun 3

Gambar : Kurva pertumbuhan bakteri pendegradasi hidrokarbon dari perairan Sungai Tallo Makassar

Kurva pertumbuhan bakteri pada stasiun 1, nampak bahwa nilai densitas optik (DO) awal 0,125 dan pada akhir pengamatan mencapai 0,456. Hal ini membuktikan bahwa terjadi pertumbuhan bakteri dalam kultur dan terpacunya sumber karbon utama yaitu hidrokarbon. Nampak juga bahwa bakteri dalam kultur mengalami beberapa fase pertumbuhan, yaitu fase eksponensial dan selanjutnya

suatu fase yang cenderung linier. Oleh Husain, *dkk* (1997) disebut sebagai fase linier dan dianggap sebagai salah satu ciri kelas kurva pertumbuhan bakteri yang tumbuh pada substrat yang mengandung hidrokarbon.

Pada kurva pertumbuhan bakteri untuk stasiun II, nilai DO awal 0,187 dan pada akhir pengamatan mencapai 0,469. Nampak bahwa stasiun II memiliki densitas optik tertinggi, dimana pertumbuhan bakteri meningkat dan terpakainya hidrokarbon sebagai sumber karbon utama jumlahnya akan lebih besar sehingga kapasitas biodegradasi akan meningkat.

Untuk pengamatan kurva pertumbuhan dari stasiun III, pada awal pengamatan nilai DO mencapai 0,155 dan pada akhir pengamatan nilai densitas optik 0,432. Dari kurva pertumbuhan bakteri dapat dilihat pertumbuhan bakteri mengalami fase perlambatan setelah pengamatan 240 jam dengan nilai DO 0,349, hal tersebut disebabkan oleh kehabisan nutrisi dan akibat adanya akumulasi senyawa toksik yang dihasilkan dari metabolisme sel (Peiczar dan Chan, 1986). Keterbatasan substrat, kepadatan populasi yang tinggi, tekanan parsial oksigen yang rendah dan timbunan produk metabolisme yang bersifat toksik dihasilkan bakteri yang pada gilirannya dapat menurunkan kecepatan pertumbuhan (Schlegel, 1994).

IV.4 Analisa Biodegradasi secara Kuantitatif

Pengukuran persentase hidrokarbon yang terdegradasi oleh bakteri dimaksudkan untuk menentukan kapasitas biodegradasi secara kuantitatif. Dari proses ekstraksi didapatkan ekstrak bahan organik (EBO) yang bervariasi beratnya yang dapat dilihat pada Tabel 4 berikut ini.

Tabel 4: Hasil analisa kuantitatif hidrokarbon (ekstrak) petroleum Jenis

Sahara

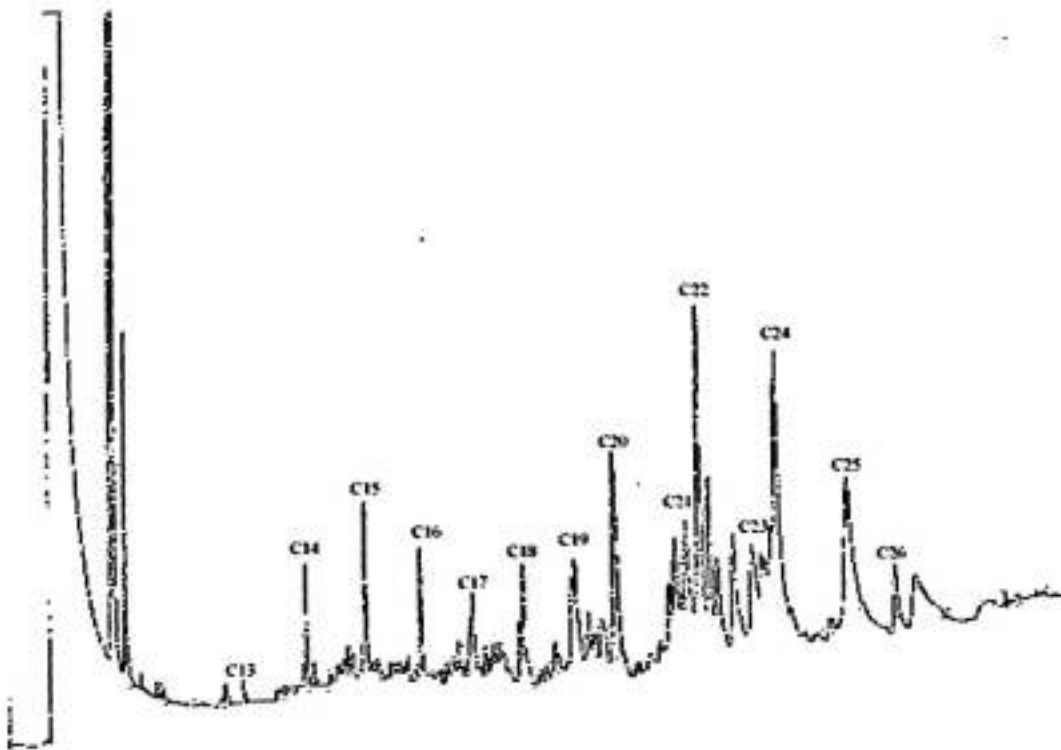
Stasiun	Berat awal (gram)	Berat akhir (gram)	Persentase biodegradasi
Kontrol	0,3236	0,3224	-
1	0,3129	0,0022	30,95%
2	0,3202	0,0074	31,16%
3	0,3186	0,0112	30,62%

Tabel 4 menunjukkan tingkat biodegradasi dari kultur pada stasiun II menunjukkan persentase paling tinggi yaitu sebesar 31,16 %. Sedangkan untuk kultur dari stasiun I dan III menunjukkan persentase biodegradasi yang lebih rendah dari stasiun II masing-masing yaitu 30,95 % dan 30,62 %. Dari ketiga stasiun, nampak stasiun II memiliki persentase biodegradasi lebih besar yaitu 31,16 %. Hal ini disebabkan karena stasiun II banyak mengandung hidrokarbon sehingga populasi bakteri meningkat.

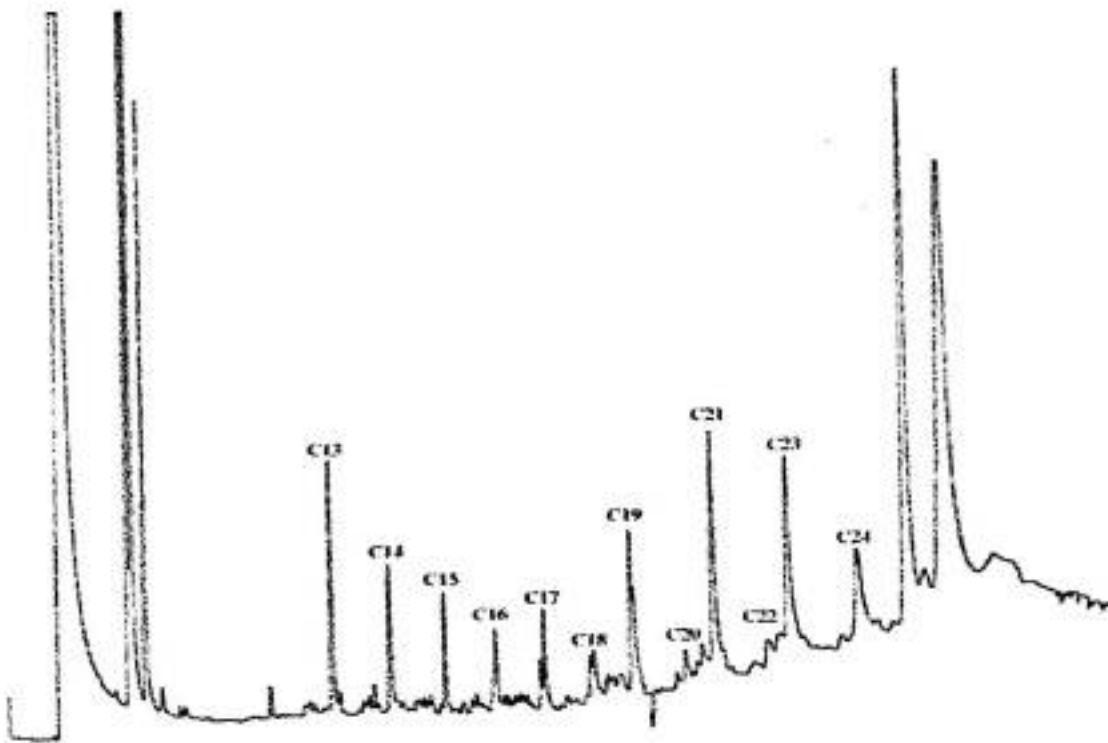
IV.5 Analisa Biodegradasi secara Kualitatif

Untuk analisa biodegradasi secara kualitatif, kultur yang telah diekstraksi terlebih dahulu dilakukan pemisahan dengan menggunakan kolom fraksinasi. Hal ini dimaksudkan untuk memisahkan fraksi alkana dengan fraksi aromatiknya, selanjutnya hanya fraksi alkana yang dapat dibaca atau dilewatkan pada alat kromatografi gas yang digunakan. Setelah pemisahan diperoleh fraksi n-alkana yang kemudian diinjeksikan kedalam kromatografi fase gas, selanjutnya diperoleh

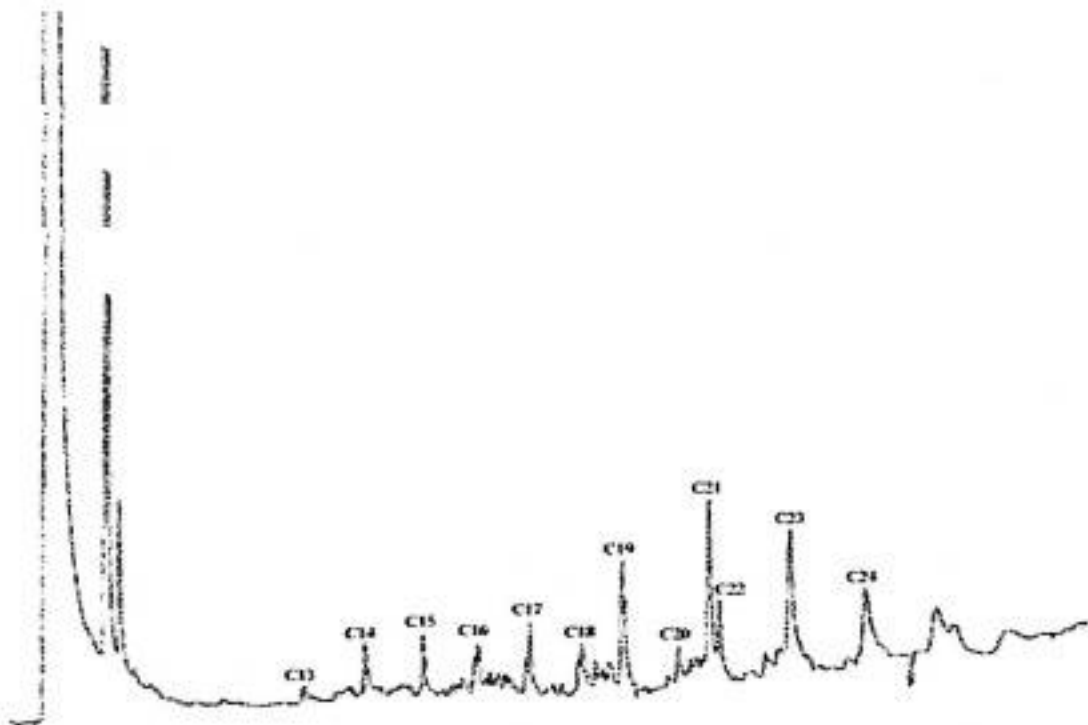
hasil kromatogram yang berupa pik. Hasil kromatogram tersebut kemudian dibandingkan dengan kromatogram kontrol pada petroleum yang sama. Dengan membandingkan hasil kromatogram kontrol dengan sampel dari tiap stasiun maka akan dapat diketahui rantai karbon yang mengalami pemutusan selama masa inkubasi yaitu 15 hari. Pemutusan rantai karbon dapat dilihat pada gambar



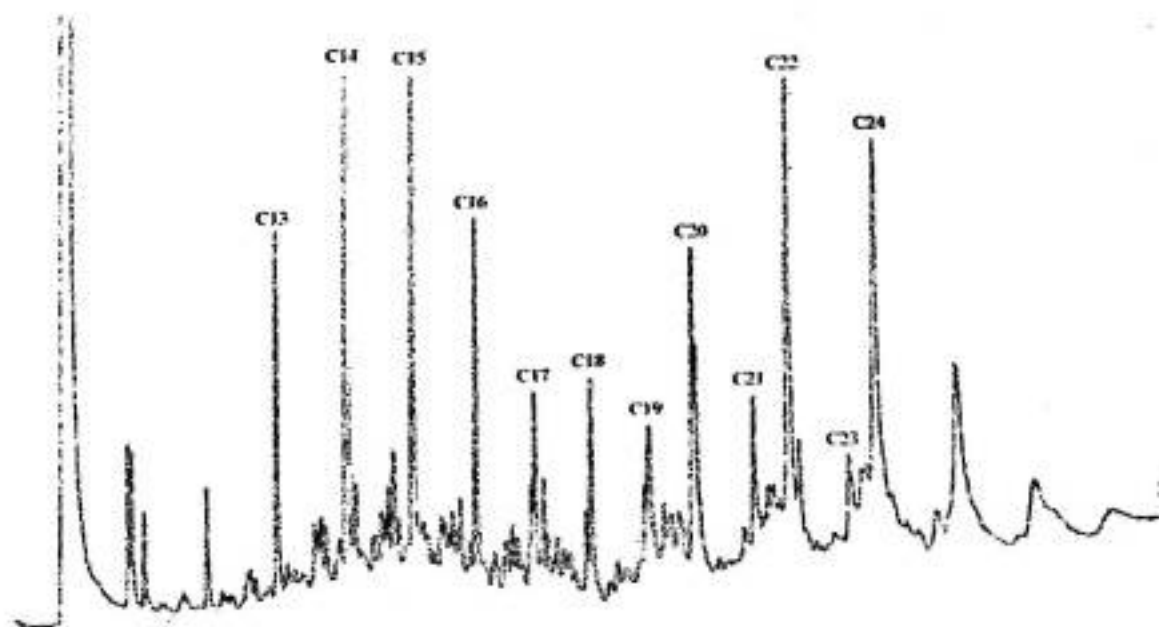
Gambar : Kromatogram kultur pada kontrol



Gambar : Kromatogram Kultur pada Stasiun I



Gambar : Kromatogram kultur pada Stasiun II



Gambar : Kromatogram Kultur pada Stasiun III

Pada stasiun I terlihat pemutusan rantai karbon yaitu C_{14} , C_{18} , C_{19} , C_{20} , C_{21} , C_{22} , C_{23} . Untuk kromatogram stasiun II jika dibandingkan dengan kromatogram kontrol mengalami pemutusan rantai karbon $C_{13} - C_{24}$. Sedangkan untuk kromatogram stasiun III terlihat lebih sedikit rantai karbon yang terputus yaitu C_{14} , C_{15} , C_{16} , C_{23} . Nampak bahwa stasiun II mengalami pemutusan rantai karbon yang lebih banyak, ini disebabkan populasi bakteri dari stasiun II dapat beradaptasi dengan lingkungan yang mengandung hidrokarbon.

Menurut Bertrand (1986), Biodegradasi hidrokarbon oleh mikroorganisme sebagian besar dikontrol oleh faktor abiotik. Secara umum faktor tersebut mempengaruhi mikroba dan aktifitas enzim. Kemudian ketahanan polutan petroleum juga bergantung pada kuantitas dari campuran hidrokarbon yang dikandung dan sifat yang mempengaruhinya seperti nutrien dan oksigen.

IV.6 Pertumbuhan Bakteri pada Media Kompleks Padat

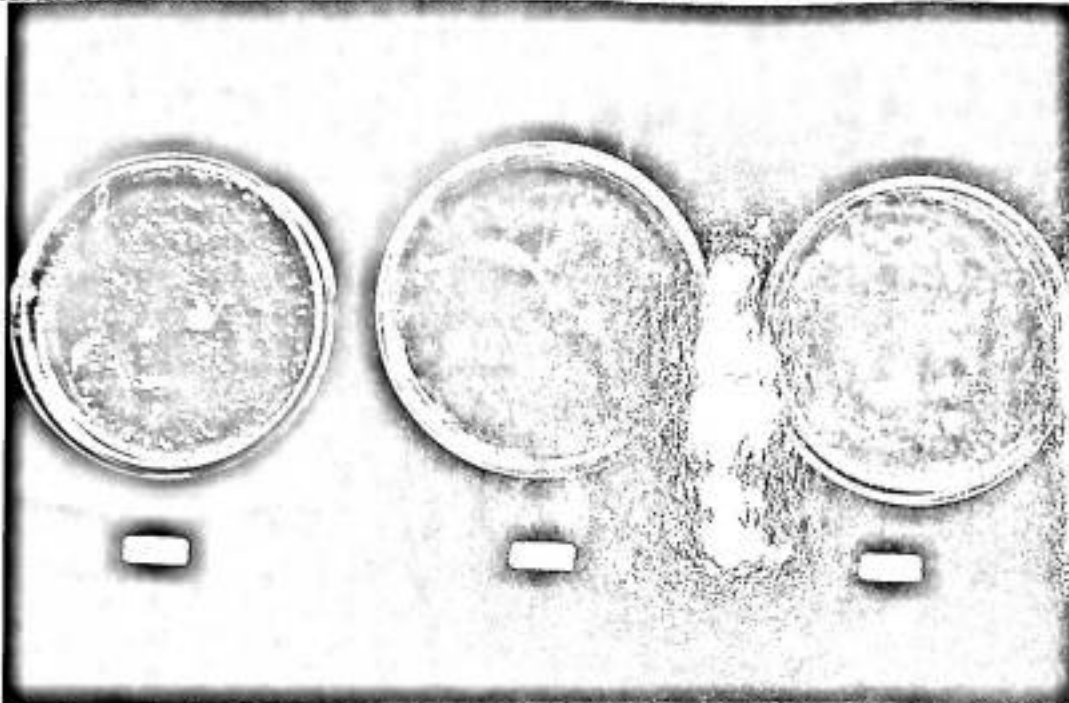
Dari hasil pemisahan koloni yang tumbuh pada media kompleks diperoleh 5 bentuk koloni bakteri yang dominan untuk semua stasiun pengambilan sampel. Pengamatan morfologi ke 5 isolat bakteri tercantum pada Tabel 5.

Tabel 5. Karakteristik Morfologi Koloni dan Sel Bakteri

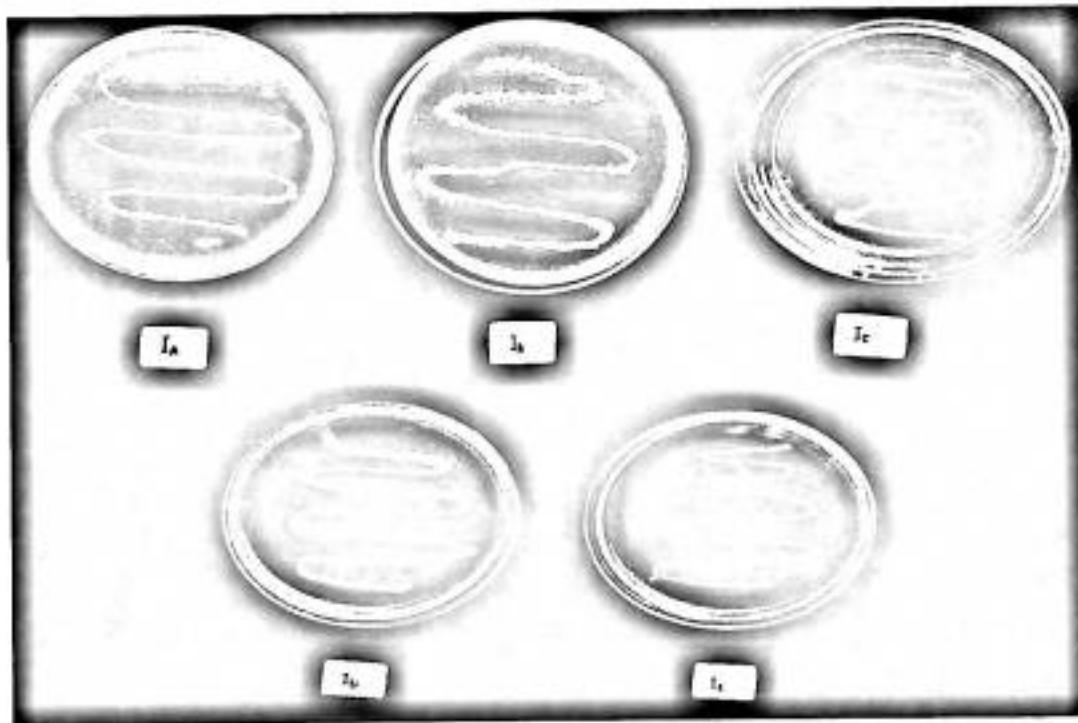
Sampel	Isolat	Ciri pertumbuhan					Morfologi sel	
		Bentuk koloni	Tepi koloni	Elevasi	Warna	Struktur dalam	Bentuk sel	Gram
A1	I _A	Circular	Undulate	Convex	Krem	Butir halus	Batang	Negatif
	I _B	Irregular	Lobate	Convex	Putih	Butir halus	Batang	Negatif
A2	I _C	Circular	Entire	Convex	Kuning	Butir halus	Bulat	Negatif
A3	I _D	Circular	Undulate	Umbonate	Kuning	Butir halus	Batang	Positif
	I _E	Irregular	Lobate	Convex	Kuning	Butir halus	Batang	Negatif

Dari hasil pengamatan morfologi dari bakteri, untuk stasiun I didapat koloni bakteri yang dominan diberi nama isolat A (I_A) dan I_B dengan masing-masing bentuk koloni circular dan irregular. Setelah dilakukan pengecatan gram dan pengamatan mikroskop pada isolat tersebut, diketahui bahwa I_A dan I_B bersifat gram negatif dengan bentuk sel berbentuk batang. Sedangkan pada stasiun II terdapat satu koloni bakteri yang dominan yaitu I_C dengan bentuk koloni circular dan setelah dilakukan pengecatan gram nampak isolat bakteri tersebut adalah gram negatif dan berbentuk bulat. Koloni bakteri pada stasiun III yang ditumbuhkan pada media agar padat terdapat dua koloni yang dominan yaitu I_D dan I_E dengan bentuk koloni circular dan irregular. Dari hasil pengecatan gram untuk I_D dan I_E diketahui bahwa

I_D tergolong bakteri gram positif dengan bentuk sel berbentuk batang, sedangkan I_E tergolong bakteri gram negatif dengan bentuk sel berbentuk batang.



Gambar : Pertumbuhan komunitas bakteri dari perairan Sungai Tallo Makassar pada media kompleks padat dengan metode tuang



Gambar : Koloni Bakteri pada Medium Kompleks Padat

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Dari hasil yang telah diperoleh maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

- Terjadi perubahan warna kultur dan pengurangan substrat petroleum jenis Sahara secara visual.
- Pada pengukuran pertumbuhan dengan spektrofotometer nilai densitas optik (DO) untuk stasiun I 0,456, stasiun II 0,469, dan stasiun III 0,432.
- Dari hasil pemisahan koloni diperoleh 5 koloni dengan karakter yang berbeda.
- Hasil analisa kuantitatif persentase biodegradasi untuk stasiun I yaitu 30,95%, sedangkan stasiun II dengan persentase biodegradasi 31,16 % dan stasiun III yaitu 30,62 %.
- Hasil analisa kualitatif dari kromatogram hasil injeksi pada kromatografi gas diperoleh adanya fraksi alkana terputus yaitu rantai karbon C_{14} , $C_{18} - C_{23}$ pada stasiun I, $C_{13} - C_{24}$ pada stasiun II dan $C_{14} - C_{16}$, C_{23} pada stasiun III.

V.2 Saran

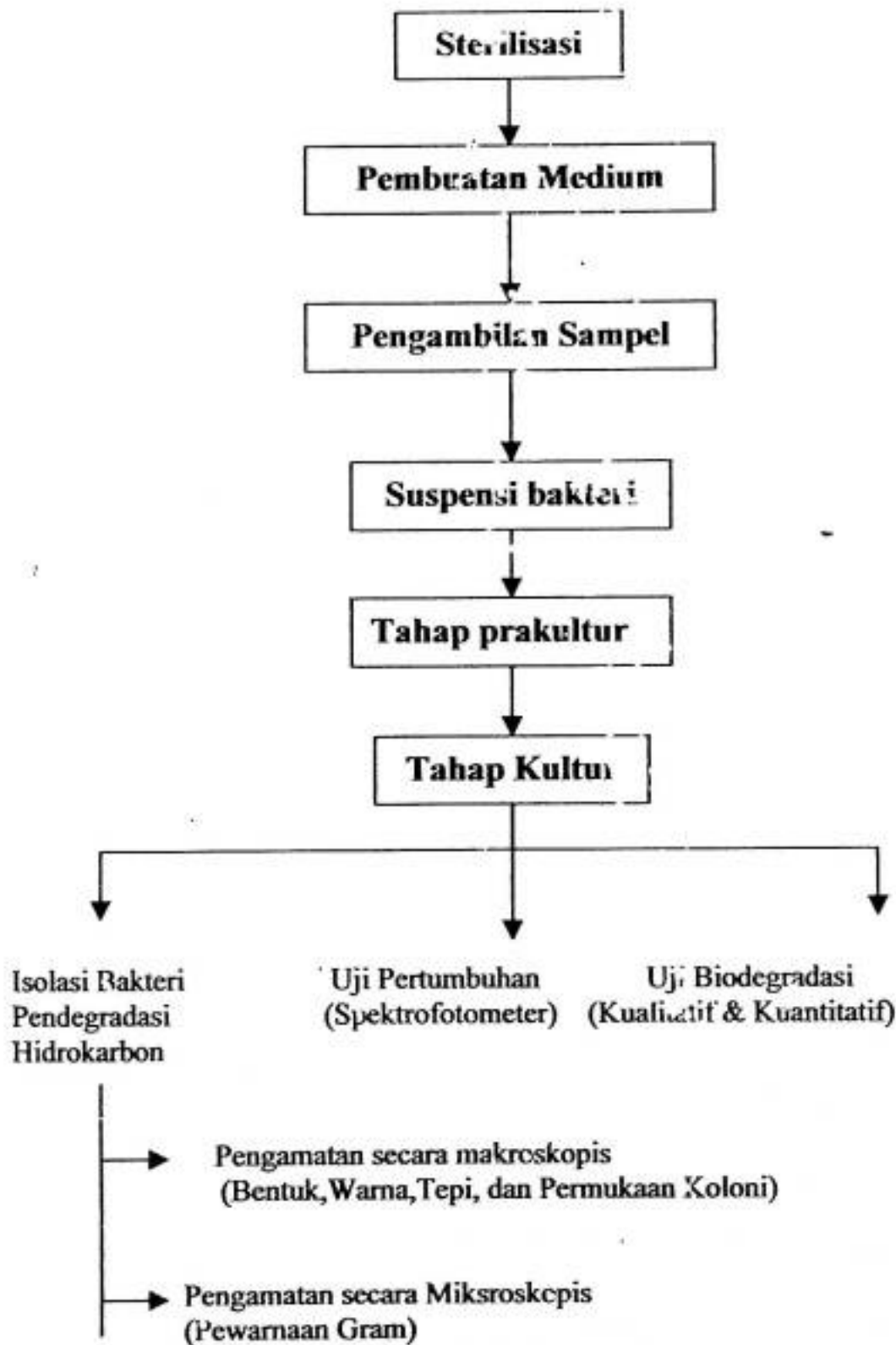
Perlu diadakan penelitian lebih lanjut mengenai karakter fisiologi dari isolat yang telah diamati kemudian diuji coba kapasitas biodegradasinya pada substrat petroleum alkana murni dan aromatik murni.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, Martin., 1999, *Biodegradation and Bioremediation 2nd Edition*, Academic Press, USA.
- Atlas, Ronald M., 1991, *Microbial Hydrocarbon Degradation-Bioremediation of Oil Spills*, University of Louisville, USA.
- Austin, B., 1993, *Marine Microbiology*, Cambridge University, Australia.
- Bertrand, J.C., 1986, *Controlled Marine Ecosystem in the Investigation of Oil Biodegradation at Sea*, *Microbiology Science* Vol 3 No.7.
- Connel, W dan Miller, J G., 1993, *Kimia dan Ekotoksikologi Pencemaran*, UI-Press, Jakarta.
- Fessenden, Ralph., 1992, *Kimia Organik Edisi III*, Erlangga, Jakarta.
- Hadi, Spto Nugroho., 2003, *Evaluasi Minyak Bumi via "Tangan" Mikroorganisme*, Departemen Biokimia IPB Situs Web Kimia Indonesia @ Yahoo.com
- Hurst, dkk., 2001, *Manual of Environmental Microbiology*, ASM Press, USA.
- Husain, Goutx, Bezac, Gilewics, dan Bertrand., 1997, *Morphological adaptation of *Pseudomonas nautica* strain 617 to growth on eicosane uptake*, *Letters in Applied Microbiology*.
- Kennish, Michael., 1992, *Ecology of Estuaries Anthropogenic effects*, CRC Press, Inc.
- Leahy, J.G dan Colwell, R.R., 1990, *Microbial Degradation of Hydrocarbon in The Environment*, *Microbiology Review*.
- Lederberg, Joshua., 1992, *Encyclopedia of Microbiology, Vol 3*, Academic Press Inc, New York.
- Martani, Erni., 1992, *Monograf Bioteknologi Lingkungan*, Pusat Antar Universitas, UGM, Yogyakarta.
- Pelczar, M.J dan Chan, E.C.S., 1986, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Universitas Indonesia, Jakarta.

- Wainheimer, G. 1991. *Aquatic Microbiology 4th Edition*. John Wiley and Sons. New York.
- Schlegel, H., 1994, *Mikrobiologi Umum*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Siahaan, Jackson., 2000, *Profil Konsentrasi dan Jenis Hidrokarbon Sedimen Laut di Lokasi Pertamina, Ampenan Lombok Barat*, Jurnal Penelitian UNRAM. Mataram.
- Tramier, B. dan Andre S., 2001, *Enhance Oil Biodegradation: A New Operational Tool to Control Oil Spills*, Centre Micolau, France.
- Wacket, L. dan Douglas H., 2001, *Biocatalysis and Biodegradation Microbial Transformation of Organic Compounds*, ASM Press, USA.

Skema Kerja







HILIR SUNGAI TALLO



Skala : 1 : 50.000

LEGENDA :

-  Sungai
-  Jalan Arteri
-  Jalan Lokal
-  Garis Kontur

Sumber : Peta Topografi Bakosurtanal

