TA/TL/2017/0765

**TUGAS AKHIR**

# KARAKTERISASI BAKTERI INDIGEN PADA BIODEGRADASI *CRUDE OIL*

**Diajukan Kepada Universitas Islam Indonesia Yogyakarta Untuk Memenuhi Persyaratan Memperoleh Derajat Sarjana Strata Satu (S1) Teknik Lingkungan**


**Disusun Oleh :**

**Warats Wijayanti**

**12.513.145**


**PROGRAM STUDI TEKNIK LINGKUNGAN**

**FAKULTAS TEKNIK SIPIL DAN PERENCANAAN**

**UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA**

**YOGYAKARTA**

**2017**

**TUGAS AKHIR**

# KARAKTERISASI BAKTERI INDIGEN PADA BIODEGRADASI CRUDE OIL

**Diajukan Kepada Universitas Islam Indonesia Yogyakarta Untuk Memenuhi Persyaratan Memperoleh Derajat Sarjana Strata Satu (S1) Teknik Lingkungan**


**Disusun Oleh :**

**Warats Wijayanti**

**12.513.145**


**PROGRAM STUDI TEKNIK LINGKUNGAN**

**FAKULTAS TEKNIK SIPIL DAN PERENCANAAN**

**UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA**

**YOGYAKARTA**

**2017**

## LEMBAR PENGESAHAN

# KARAKTERISASI BAKTERI INDIGEN PADA BIODEGRADASI CRUDE OIL

## *CHARACTERIZATION OF THE INDIGENOUS BACTERIA IN CRUDE OIL BIODEGRADATION*

**Diajukan Kepada Universitas Islam Indonesia Yogyakarta Untuk Memenuhi Persyaratan Memperoleh Derajat Sarjana Strata Satu (S1) Teknik Lingkungan**




**Disusun Oleh :**

**Warats Wijayanti**

**12.513.145**

Disetujui:

Dosen Pembimbing I

**Any Juliani., S.T.,M.Sc.(Res.Eng)**

**Tanggal:** 13/10-2017

Mengetahui,

Ketua Jurusan Teknik Lingkungan FTSP UII




**Hudori.,S.T.,M.T**

**Tanggal:** 16/10-2017

## LEMBAR PENGESAHAN

## KARAKTERISASI BAKTERI INDIGEN PADA CRUDE OIL UNTUK BIOREMEDIASI

## *CHARACTERIZATION OF THE INDIGENOUS BACTERIA IN CRUDE OIL BIODEGRADATION*

**Diajukan Kepada Universitas Islam Indonesia Yogyakarta Untuk Memenuhi Persyaratan Memperoleh Derajat Sarjana Strata Satu (S1) Teknik Lingkungan**

**Disusun Oleh :**

**Warats Wijayanti**

**12.513.145**

Telah diperiksa dan disetujui oleh:

Dosen Pembimbing I

**Any Juliani., S.T.,M.Sc.(Res.Eng)**

**Tanggal:** 13/10 - 2017

Penguji I

**Yebi Yuriandala.,S.T.,M.Eng**

**Tanggal:** 13 Oktober 2017

Penguji II

**Anja Asmarany R.,S.Si., M.Si**

**Tanggal:** 13 Oktober 2017



iii

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa :

1. Karya tulis ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik apapun, baik di Universitas Islam Indonesia maupun di perguruan tinggi lainnya.
2. Karya tulis ini adalah merupakan gagasan, rumusan dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan pihak lain kecuali arahan Dosen Pembimbing.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat orang lain, kecuali telah tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama penulis dan dicantumkan dalam daftar pustaka.
4. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sangsi akademik dengan pencabutan gelar yang sudah diperoleh, serta sangsi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi.

Yogyakarta, Mei 2017

Yang membuat pernyataan,




**WARATS WIJAYANTI**

**NIM: 12513145**

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbil'alamin, segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas sifat Ar-Rahman dan Ar-RahiimNya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir yang berjudul " Karakterisasi Bakteri Indigen pada Crude Oil untuk Bioremediasi" ini dengan lancar. Selama masa penelitian dan penyusunan laporan, terdapat beberapa kesulitan dan hambatan yang penulis hadapi, namun kesulitan tersebut dapat diselesaikan atas bantuan dari berbagai pihak. Pihak yang telah membantu tentunya mempunyai andil yang cukup besar dalam penelitian dan penyusunan laporan ini, sehingga penulis ingin mengucapkan rasa terima kasih kepada :

- Kedua orang tua penulis, Bapak Arifudin dan Ibu Nur Laela Khasanah atas doa, dukungan, dan segala sesuatu yang telah diberikan sehingga penulis dapat sampai pada tahap ini.
- Ibu Any Juliani, S.T., M.Sc (Res.Eng) sebagai pembimbing I Tugas Akhir, terima kasih banyak atas keuletan dan kesabarannya dalam membimbing. Tak lupa juga atas berbagai ilmu yang telah diberikan.
- Ibu Annisa Nur Latifah sebagai pembimbing II yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan teknis penelitian, serta motivasi dan semangat yang tiada henti.
- Pak Tasyono, Mas Iwan, Mbak Rina, Mbak Diah, dan Mbak Nuri sebagai laboran di Laboratorium Kualitas Lingkungan FTSP yang telah banyak memberikan penjelasan dan arahan selama melakukan penelitian di Laboratorium Mikrobiologi FTSP UII.
- Mbak Ratna, Mbak Shinta, dan Mas Heri yang telah banyak membantu dalam menyelesaikan administrasi selama penulis menyelesaikan studi di Program Studi Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Universitas Islam Indonesia.
- Mukti Habil Valentino, Brilian Moshafina, dan Juaria Yola Ramadhani yang telah menjadi motivasi bagi penulis untuk menjadi contoh yang baik dalam keluarga.

- Teman – teman seperjuangan dalam tugas akhir bioremediasi Winda Aisyah, Yaneva Oxi, dan Nabilah Sarah yang telah menjadi teman diskusi bagi penulis.
- Nabila Khumaira dan Dewanti K.Wijaya yang selalu memberi semangat dan sangat membantu selama proses penelitian. *"Terimakasih telah menerima segala kekurangan dan keterbatasanku..aku bersyukur dipertemukan dengan sahabat sebaik kalian"*
- Dyah Ayu Woro, Ratnawilis Safisani, dan Faridis Ing Nirwana yang menemani penulis menjalani masa-masa revisi hingga siding pendadaran Tugas Akhir.
- Nelly Nur Hamidah, Nadia Brilliant, Indi Nailufar, Chilfatul, Ulfatul, Eci Adria Sari, Aufa, Atya, Diyah, Arrum Andini, Sabella, Kakak Ulin, dan seluruh penghuni komplek 5 PP. Sunan Pandanaran yang telah banyak sekali membantu dan menghibur penulis. *"Terimakasih atas support dan doa-doa kalian, semoga sukses selalu"*

# `DAFTAR ISI

**HALAMAN JUDUL** ..... **i**

**HALAMAN PENGESAHAN** ..... **ii**

**PERNYATAAN** ..... **iv**

**KATA PENGANTAR** ..... **v**

**ABSTRAK** ..... **vii**

**ABSTRACT** ..... **viii**

**DAFTAR ISI** ..... **ix**

**DAFTAR TABEL** ..... **xii**

**DAFTAR GAMBAR** ..... **xiii**

**DAFTAR LAMPIRAN** ..... **xiv**

**BAB I PENDAHULUAN**

1.1. Latar Belakang ..... 1

1.2. Rumusan Masalah ..... 2

1.3. Batasan Masalah ..... 2

1.4. Tujuan Penelitian ..... 2

1.5. Manfaat Penelitian ..... 3

**BAB II TINJAUAN PUSTAKA**

2.1. Bioremediasi ..... 4

2.2. Bioremediasi Minyak Mentah ..... 4

2.3. Biodegradasi ..... 5

2.4. Mikroorganisme Pendegradasi Minyak Mentah ..... 7

2.5. Peran Enzim dalam Degradasi Hidrokarbon ..... 10

2.6. Pertumbuhan Bakteri ..... 11
2.7. Nilai pH Sebagai Faktor Fisik Pertumbuhan Bakteri ..... 15
2.8. Media Pertumbuhan Bakteri ..... 16
2.8.1. Pengertian Media ..... 16
2.8.2. Penggolongan Media ..... 16
2.9. Karakteristik dan Kandungan Crude Oil ..... 18
2.10. Total Petroleum Hydrocarbon (TPH) ..... 20

**BAB III METODE PENELITIAN**

3.1. Koleksi Sampel ..... 22
3.2. Alat dan Bahan ..... 24
3.3. Tempat Penelitian ..... 26
3.4. Tahapan Penelitian ..... 26
3.4.1. Persiapan Isolat ..... 26
3.4.2. Penyiapan Reaktor dan Media ..... 27
3.4.3. Sampling dan Analisa ..... 29
3.4.4. Pengolahan Data ..... 29
3.5. Variabel Penelitian ..... 31
3.6. Parameter Penelitian ..... 32

**BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

4.1. Persiapan Bakteri Untuk Bioremediasi ..... 33
4.2. Hasil dan Analisa Pertumbuhan Bakteri ..... 34
4.3. Analisis Turbiditas Bakteri pada media NB, BHMS, dan HP ..... 35
4.4. Hasil dan Analisa Nilai pH ..... 39
4.5. Hasil dan Analisa Kadar TPH (Total Petroleum Hydrocarbons) ..... 42
4.6. Pengaruh Kekeruhan Terhadap Penurunan TPH ..... 43
4.6.1. Bakteri Isolat 1 ..... 43
4.6.2. Bakteri Isolat 2 ..... 45

4.6.3. Bakteri Isolat 3 ..... 46
4.7. Pengaruh Nilai pH Terhadap Degradasi TPH ..... 47
4.7.1. Media NB ..... 47
4.7.2. Media BHMS ..... 49
4.7.3. Media HP ..... 50

**BAB V KESIMPULAN DAN SARAN**

5.1. Kesimpulan ..... 53
5.2. Saran ..... 53
**DAFTAR PUSTAKA** ..... **55**
**LAMPIRAN** ..... **60**

# ABSTRAK

Kegiatan penambangan minyak mentah berpotensi untuk menimbulkan pencemaran senyawa hidrokarbon di lingkungan. Upaya alternatif yang dapat dilakukan untuk mengatasi permasalahan tersebut yaitu dengan memanfaatkan mikroba pendegradasi senyawa pencemar hidrokarbon. Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi dan menganalisis kemampuan bakteri dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon. Bakteri yang digunakan merupakan bakteri indigen yang diisolasi dari area pertambangan di desa Talang Sungaiangit, Sumatera Selatan. Karakterisasi bakteri dilakukan dengan menumbuhkan tiga isolat bakteri pada beberapa jenis media, yaitu media *Nutrient Broth* (NB), media *Bushnell Haas Mineral Salt* (BHMS), dan media *High Phosphate* (HP). Analisis aktivitas biodegradasi *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH) oleh bakteri dilakukan dengan menggunakan metode gravimetri. Hasil analisis menunjukkan bahwa media HP merupakan media yang paling baik untuk mendukung bakteri dalam proses biodegradasi. Isolat 3 memberikan hasil biodegradasi TPH terbesar, yaitu sebanyak 32,783 %. Sementara itu, bakteri isolat 1 dan 2 yang tumbuh pada media HP menghasilkan degradasi sebesar 15,530 % dan 21,928 %.

**Kata kunci:** Biodegradasi, Media, TPH, Hidrokarbon

# *ABSTRACT*

*Crude oil mining activities have the potential to cause pollution of hydrocarbon compounds in the environment. Alternative efforts that can be done to overcome the problem is by utilizing microbial degradation of hydrocarbon pollutant compound. This study aims to characterize and analyze the ability of bacteria in degrading hydrocarbon compounds. The bacteria used are indigenous bacteria isolated from the mining area in Talang Sungaiangit village, South Sumatera. Bacterial characterization was performed by growing three bacterial isolates in several media types, namely Nutrient Broth (NB) media, Bushnell Haas Mineral Salt (BHMS) media, and High Phosphate (HP) media. The analysis of the activity of Total Petroleum Hydrocarbon (TPH) biodegradation by bacteria was done by gravimetric method. The result shows that HP media is the best medium to support bacteria in the biodegradation process. Isolate 3 gives the largest TPH biodegradation result, that is 32,783 %. Meanwhile, bacteria isolates 1 and 2 growing on HP media resulted in degradation of 15,530 % and 21,928 %.*



***Keywords:*** *Biodegradation, Media, TPH, Hydrocarbon*

# BAB I

# PENDAHULUAN

## 1.1. Latar Belakang

Kegiatan penambangan minyak mentah (*crude oil*) yang dilakukan oleh warga secara tradisional memiliki resiko pencemaran tanah. Salah satunya adalah penambangan milik warga Desa Talang Sungaiangit, Kecamatan Babat Toman, Kabupaten Musi Banyuasin, Provinsi Sumatera Selatan. Hal tersebut dikarenakan, warga tidak dapat mengatasi masalah ceceran minyak yang berada di area penambangan. Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mengatasi masalah pencemaran tanah yang diakibatkan oleh minyak mentah adalah bioremediasi. Bioremediasi yaitu proses pembersihan lingkungan dari bahan pencemar dengan menggunakan material biologis berupa mikroba. Mikroba yang mampu mendegradasi kandungan hidrokarbon dalam minyak merupakan bakteri hidrokarbonoklastik. Juliani, dkk (2016) telah berhasil menemukan 7 isolat bakteri yang berasal dari *crude oil* murni hasil penambangan warga Desa Talang Sungaiangit tersebut. Oleh karena itu, penelitian tentang bakteri yang telah ditemukan dalam kemampuannya mendegradasi hidrokarbon perlu untuk dilakukan.

Salah satu faktor keberhasilan dalam proses bioremediasi suatu lingkungan yang tercemar minyak adalah nilai pH. Bakteri dapat mengalami pertumbuhan yang baik pada rentang pH optimum. Sementara dalam proses degradasinya, nilai pH cenderung mengalami penurunan diakibatkan oleh enzim protein yang berupa asam dari hasil metabolisme bakteri. Untuk mengetahui besarnya pengaruh pH terhadap pertumbuhan dan keberhasilan bakteri dalam menurunkan hidrokarbon, penelitian dilakukan dengan menumbuhkan 3 isolat bakteri yang telah ditemukan dalam media yang berbeda, salah satunya yaitu media dengan kapasitas buffer pH tinggi.

## 1.2.Rumusan Masalah

Masalah yang akan dibahas dalam penelitian ini adalah :

1. Pengaruh jenis media terhadap pertumbuhan bakteri pendegradasi minyak bumi.
2. Perbandingan kinerja masing-masing bakteri dalam kemampuan mendegradasi hidrokarbon.

## 1.3. Batasan Masalah

Untuk memudahkan dalam pelaksanaan penelitian, maka digunakan batasan masalah sebagai berikut :

1. Bakteri yang digunakan dalam penelitian, merupakan bakteri indigen yang berasal dari minyak mentah hasil penambangan milik warga daerah Suban, Kabupaten Musi, Banyuasin, Sumatera Selatan.
2. Bakteri yang terlibat dalam penelitian merupakan tiga isolat bakteri yang ditemukan dalam minyak mentah.
3. Parameter yang diuji adalah turbiditas (kekeruhan), pH, dan *Total Petroleum Hydrocarbons* (TPH).
4. Penelitian dilakukan dalam skala laboratorium.
5. Tidak ada control pH dan temperatur.

## 1.4. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian yang dilakukan adalah :

1. Menentukan bakteri yang paling berpengaruh pada penurunan kadar TPH dari tiga isolat bakteri yang ada.
2. Menganalisis pengaruh jenis media terhadap biodegradasi masing – masing bakteri.

## 1.5. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Memberikan informasi kepada pemerintah daerah Kabupaten Musi Banyuasin untuk penanganan pencemaran minyak dengan metode bioremediasi berupa bakteri yang efektif dalam proses biodegradasi hidrokarbon.
2. Memberikan pengetahuan kepada perusahaan pemilik kilang minyak desa Talang Sungaiangit tentang kondisi pH yang optimum untuk pertumbuhan bakteri pendegradasi hidrokarbon.
3. Memberikan pengetahuan kepada Badan Lingkungan Hidup (BLH), selaku pembuat kebijakan dalam meminimalisir kerusakan lingkungan akibat tumpahan minyak.

# BAB II

# TINJAUAN PUSTAKA

## 2.1. Bioremediasi

Bioremediasi merupakan teknologi restorasi lingkungan tercemar untuk menurunkan toksisitas polutan dengan menggunakan mikrobia (Vidali, 2001). Komunitas mikrobia memainkan peran yang sangat penting dalam biodegradasi senyawa-senyawa pencemar alami maupun yang berasal dari aktivitas manusia. Bioremediasi juga memiliki waktu pengobatan tercepat dibandingkan dengan teknologi lain. Bioremediasi sangat efektif bagi media terkontaminasi berat seperti air tanah, limbah cair dan limbah padat, serta lumpur minyak. (Suja *et al*, 2014).

Bioremediasi dapat berlangsung secara alamiah dalam beberapa kasus pencemaran lingkungan, hal ini disebabkan karena mikroorganisme pada lingkungan yang tercemar tersebut telah beradaptasi untuk mendegradasi polutan. Adapun ini ditandai dengan peningkatan laju biodegradasi polutan oleh mikroorganisme, tetapi laju bioremediasi alamiah ini tidak cukup untuk melindungi lingkungan dari tingkat pencemaran yang lebih serius. Oleh karena itu, diperlukan proses bioremediasi yang melibatkan peran serta manusia dan kemajuan teknologi terutama bidang bioteknologi.

## 1.2. Bioremediasi Minyak Mentah

Minyak bumi adalah sumber utama energi fosil yang memegang peranan penting untuk industri, transportasi, dan rumah tangga. Produksi minyak mentah dunia diperkirakan sebanyak tiga miliar ton per tahun, dan sekitar setengahnya diangkut melalui laut. Berbagai kegiatan eksplorasi, eksploitasi, transportasi, penyimpanan, pengolahan, dan distribusi minyak mentah masih sering mengalami kebocoran dan atau tumpahan minyak ke lingkungan. Penanganan

yang tidak tepat dapat menyebabkan pencemaran lingkungan dan berbahaya bagi makhluk hidup. Bioremediasi didefinisikan sebagai teknologi yang menggunakan mikroba untuk mengolah hidrokarbon minyak bumi dari kontaminan melalui mekanisme biodegradasi alamiah atau meningkatkan mekanisme biodegradasi alamiah (*intrinsic bioremediation*) dengan menambahkan mikroba, nutrien, donor elektron dan atau akseptor elektron (*enhanced bioremediation*) (Nugroho, 2006).

Pada teknik bioremediasi tumpahan minyak bumi terdapat dua pendekatan yang dapat digunakan, yaitu (Handrianto dkk, 2012) :

a. Bioaugmentasi, dimana mikroorganisme pengurai ditambahkan untuk melengkapi populasi mikroba yang telah ada.
b. Biostimulasi, dimana pertumbuhan pengurai hidrokarbon asli dirangsang dengan cara menambahkan nutrien.

### 1.3.Biodegradasi

Minyak bumi merupakan campuran kompleks senyawa organik yang terdiri atas senyawa hidrokarbon dan nonhidrokarbon yang berasal dari sisa-sisa mikroorganisme, tumbuhan, dan binatang yang tertimbun selama berjuta-juta tahun. Kandungan senyawa hidrokarbon dalam minyak bumi lebih dari 90 % dan sisanya merupakan senyawa non hidrokarbon. Biodegradasi dilakukan dengan cara memotong rantai hidrokarbon tersebut menjadi lebih pendek dengan melibatkan berbagai enzim. Sistem enzim-enzim tersebut dikode oleh kromosom atau plasmid, tergantung pada jenis bakterinya. (Nugroho, 2006).

Keberhasilan proses biodegradasi sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor lingkungan. Berbagai faktor tersebut diantaranya komposisi minyak, komunitas mikroba, serta kondisi lingkungan. Faktor – faktor tersebut dapat diuraikan sebagai berikut (Leahy & Colwell, 1990) :

1. Komposisi minyak (struktur kimia)

   Biodegradasi suatu senyawa berkaitan erat dengan struktur senyawa hidrokarbon maupun konsentrasi minyak. Biodegradasi hidrokarbon

minyak bumi oleh mikroba terjadi pada hidrokarbon jenuh terlebih dahulu dan diikuti dengan hidrokarbon aromatik. Konsentrasi hidrokarbon minyak yang tinggi memiliki tingkat toksik yang tinggi pula sehingga dapat menyebabkan laju biodegradasi hidrokarbon menurun .

2. Komunitas mikroba

   Degradasi hidrokarbon minyak bumi juga tergantung oleh komunitas mikroba. Beberapa karakteristik penting yang harus dimiliki mikroba hidrokarbonklastik diantaranya memiliki enzim oksigenase dan mengikat hidrokarbon, menghasilkan emulsifier, mengoptimalkan kontak antara mikroorganisme dengan hidrokarbon. Selain itu, proses biodegradasi hidrokarbon minyak bumi dipengaruhi oleh jumlah mikroba hidrokarbonoklastik karena jumlah mikroba yang cukup akan menghasilkan banyak produk enzim tertentu yang dapat mendegradasi hidrokarbon minyak bumi (Nugroho, 2006)

3. Suhu

   Suhu yang rendah akan menurunkan laju aktivitas enzim, dan volatilitas alkane dengan rantai pendek yang bersifat toksik akan menurun dan kelarutannya di air mengalami peningkatan sehingga menghambat atau memperlambat laju biodegradasi. (Leahy & Colwell, 1990)

4. Oksigen

   Oksigen merupakan salah satu faktor utama yang dibutuhkan dalam proses biodegradasi hidrokarbon yang melibatkan enzim oksigenase agar molekul hidrokarbon dapat digunakan sebagai sumber karbon oleh mikroba untuk metabolisme sel (Nugroho 2006). Proses biodegradasi hidrokarbon akan lebih efektif ketika dalam kondisi aerob karena bakteri secara efektif dapat mendegradasi senyawa alifatik dan aromatik. Degradasi senyawa alifatik, siklik, serta aromatik oleh bakteri dan fungi melibatkan oksidasi substrat melalui oksigenase sehingga oksigen diperlukan sebagai katalis enzim oksidasi (Leahy & Colwell, 1990)

5. pH

   Umumnya bakteri heterotrof dan fungi lebih menyukai pH yang mendekati netral. Bakteri tidak dapat mendegradasi hidrokarbon pada kondisi pH yang ekstrim. Namun demikian, laju biodegradasi akan meningkat seiring meningkatnya pH dan optimum ketika pH berada pada kondisi sedikit alkali (Dibble & Bartha, 1979)

6. Nutrien

   Nutrien merupakan sumber pendukung mikroba untuk dapat tetap hidup, tumbuh, dan berkembang biak serta menghasilkan enzim – enzim untuk mendegradasi hidrokarbon. Nitrogen dan fosfor merupakan nutrien yang dibutuhkan bakteri dalam membantu mendegradasi senyawa hidrokarbon.

### 1.4. Mikroorganisme Pendegradasi Minyak Mentah

Kelompok mikroba yang umum digunakan dalam mendegradasi minyak bumi adalah bakteri, karena dapat menggunakan hidrokarbon minyak sebagai sumber karbon dan energi sehingga bakteri dapat tumbuh serta dapat menghasilkan biosurfaktan dan emulsifier. Bakteri yang dapat menggunakan senyawa hidrokarbon sebagai sumber karbon dikenal sebagai bakteri hidrokarbonoklastik (Nugroho, 2006). Bakteri pengurai minyak bumi ternyata cukup banyak dan dapat ditemukan di berbagai tempat yang sesuai, yaitu lingkungan yang mengandung limbah minyak bumi yang cukup.

Jenis bakteri yang berbeda telah dilaporkan memiliki potensi biodegradasi. Contohnya *Bacillus* spp. *Bacillus pumilus strains*, *Pseudomonas* sp. dan *Bacillus* sp. *Pseudomonas aeruginosa* dan *Rhodococcus* sp., *Pseudomonas* sp. dan *Klebsiella* dan *Pseudomonas* spp. telah ditemukan memiliki potensi dalam mendegradasi lumpur minyak. Spesies bakteri tersebut terutama mendegradasi hidrokarbon rantai panjang atau memproduksi biosurfaktan. (Afifi *et al*, 2015). Biosurfaktan merupakan komponen mikroorganisme yang terdiri atas molekul hidrofobik dan molekul hidrofilik, yang mampu mengikat molekul hidrokarbon

tidak larut air dan mampu menurunkan tegangan permukaan . Selain itu biosurfaktan secara ekstraseluler menyebabkan emulsifikasi hidrokarbon sehingga mudah untuk didegradasi (Fatimah, 2007). Biosurfaktan terbagi menjadi dua kelompok (Fatimah, 2007), yaitu : surfaktan dengan berat molekul rendah (seperti glikolipid, soforolipid, trehalosalipid, asam lemak dan fosfolipid) yang terdiri dari molekul hidrofobik dan hidrofilik. Kelompok ini bersifat aktif permukaan, ditandai dengan adanya penurunan tegangan permukaan medium cair. Kelompok kedua adalah polimer dengan berat molekul besar, yang dikenal dengan bioemulsifier polisakarida amfifatik. Dalam medium cair, bioemulsifier ini mempengaruhi pembentukan emulsi serta kestabilannya dan tidak selalu menunjukkan penurunan tegangan permukaan medium.

Terdapat tiga cara transpor hidrokarbon ke dalam sel mikroba secara umum, yaitu (Fatimah, 2007) :

- Pertama, interaksi sel dengan hidrokarbon terlarut dalam fase air. Pada kasus ini umumnya rata-rata kelarutan hidrokarbon oleh proses fisika sangat rendah sehingga tidak dapat mendukung pertumbuhan mikroorganisme.
- Kedua, kontak langsung (perlekatan) sel dengan permukaan tetesan hidrokarbon yang lebih besar daripada sel mikroba. Pada kasus yang kedua ini sel mikroba melekat pada permukaan tetesan hidrokarbon yang lebih besar daripada sel, dan pengambilan substrat dilakukan dengan difusi atau transpor aktif. Ketersediaan substrat untuk penempelan sel menunjukkan adanya mekanisme yang penting dalam pengambilan substrat.
- Ketiga, interaksi sel dengan tetesan hidrokarbon yang teremulsi atau tersolubilisasi oleh bakteri. Pada kasus ini sel mikroba berinteraksi dengan partikel hidrokarbon yang lebih kecil daripada sel. Cara yang ketiga ini merupakan kebalikan dari kasus yang kedua. Dengan berkurangnya partikel substrat, maka daerah antar permukaan antara

hidrokarbon dengan air akan bertambah, sehingga dapat meningkatkan pengambilan substrat oleh mikroba

**Tabel 2.1. Hasil Penelitian dari Peneliti Pendahulu Mengenai Penurunan Kadar TPH dalam Proses Bioremediasi**

| Nama Peneliti | Judul Penelitian | Hasil Penelitian | Keterangan |
|---|---|---|---|
| Prayitno,2012 | Pengaruh Konsorsium dan Dosis Mikroba dalam Mendegradasi Senyawa Hidrokarbon di Tanah Tercemar Minyak Bojonegoro | Nilai TPH masing-masing perlakuan turun dari 5,8% menjadi 2,8-3,2% setelah 12 minggu | Analisis statistik menyatakan bahwa pemberian konsorsium dan dosis konsorsium bakteri tidak berpengaruh nyata terhadap penurunan nilai TPH maupun terhadap populasi mikroba tanah |
| Ayotamuno *et al*, 2007 | Bioremediation of A Sludge Containing Hydrocarbons | Reduksi THC (*Total Hydrocarbon-Content*) lumpur minyak bervariasi antara 40,7 dan 53,2% dalam waktu 2 minggu, terbaik antara 63,7 dan 84,5% selama 6 minggu penerapan bioremediasi | Nilai pH lumpur fluktuatif antara 6,5 dan 7,8 selama periode yang sama |
| Hafiluddin, 2011 | Bioremediasi Tanah Tercemar Minyak dengan Teknik Bioaugmentasi dan Biostimulasi | Kandungan minyak pada perlakuan biostimulasi dan bioaugmentasi berkurang sampai di bawah 1% setelah 60 hari pengamatan | |

| Nama Peneliti | Judul Penelitian | Hasil Penelitian | Keterangan |
|---|---|---|---|
| Sudrajat dkk, 2015 | Isolasi dan Aplikasi Mikroba Indigen Pendegradasi Hidrokarbon dari Tanah Tercemar Minyak Bumi | Konsorsia Mikroba III (Pseudomonas sp, Bacillus cereus, dan Aspergillus niger)merupakam konsorsia terbaik dalam menurunkan TPH yaitu sebesar 89,1% dalam 5 minggu | |

Sumber: data sekunder (2017)

## 1.5. Peran Enzim dalam Degradasi Hidrokarbon

Proses degradasi hidrokarbon dalam minyak dapat dipengaruhi oleh sistem enzim tertentu. Das dan Chandran, 2011 merangkumnya dalam tabel 2.2 berikut :

**Tabel 2.2. Enzim yang Terlibat dalam Biodegradasi Hidrokarbon**

| Enzim | Substrat | Mikroorganisme | Referensi |
|---|---|---|---|
| Soluble Methane Monooksigenase | C1–C8 alkanes alkenes and cycloalkanes | Methylococcus<br>Methylosinus<br>Methylocystis<br>Methylomonas<br>Methylocella | McDonald et al. |
| Particulate Methane Monooksigenase | C1–C5 (halogenated) alkanes and cycloalkanes | Methylobacter<br>Methylococcus<br>Methylocystis | McDonald et al. |
| AlkB related Alkane Hydroxylases | C5–C16 alkanes, asam lemak, alkyl benzenes, cycloalkanes, dsb | Pseudomonas<br>Burkholderia<br>Rhodococcus,<br>Mycobacterium | Jan et al |
| Eukaryotic P450 | C10–C16 alkanes, asam lemak | Candida maltosa<br>Candida tropicalis<br>Yarrowia lipolytica | Iida et al |
| Bacterial P450 oxygenase system | C5–C16 alkanes, cycloalkanes | Acinetobacter<br>Caulobacter<br>Mycobacterium | Van Beilen et al. |
| Dioksigenase | C10–C30 alkanes | Acinetobacter sp. | Maeng et al |

## 1.6.Pertumbuhan Bakteri

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah (Wibowo, 2012) :

1. Zat Gizi

   Semua bentuk kehidupan mempunyai persamaan dalam hal persyaratan nutrisi berupa zat-zat kimiawi yang diperlukan untuk pertumbuhan dan aktivitas lainnya.

2. Keasaman (pH)

   Nilai pH medium biakan juga mempengaruhi kecepatan pertumbuhan, untuk pertumbuhan bakteri juga terdapat rentang pH dan pH optimal. Pada bakteri patogen pH optimalnya 7,2 – 7,6. Meskipun medium pada awalnya dikondisikan dengan pH yang dibutuhkan untuk pertumbuhan, tetapi secara bertahap besarnya pertumbuhan akan dibatasi oleh produk metabolit yang dihasilkan mikroorganisme tersebut.

3. Suhu

   Setiap bakteri memiliki temperatur optimal dimana mereka dapat tumbuh sangat cepat dan memiliki rentang temperatur dimana mereka dapat tumbuh. Pembelahan sel sangat sensitif terhadap efek kerusakan yang disebabkan temperatur; bentuk yang besar dan aneh dapat diamati pada pertumbuhan kultur pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur yang mendukung tingkat pertumbuhan yang sangat cepat. Berdasarkan suhu optimum pertumbuhannya, mikroba dapat dikelompokkan menjadi 3, yaitu psikrofilik , yang suhu optimum pertumbuhannya 5 - 15°C, mesofilik 25 - 40°C, dan termofilik 45 – 60°C.

4. Ketersediaan Oksigen

   Kebutuhan oksigen pada bakteri tertentu mencerminkan mekanisme yang digunakan untuk memenuhi kebutuhan energinya. Berdasarkan kebutuhan oksigen tersebut, bakteri dapat dipisahkan menjadi lima kelompok :

   - Anaerob obligat yang tumbuh hanya dalam keadaan tekanan oksigen yang sangat rendah dan oksigen bersifat toksik

- Anaerob aerotoleran yang tidak terbunuh dengan paparan oksigen
- Anaerob fakultatif, dapat tumbuh dalam keadaan aerob dan anaerob
- Aerob obligat, membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya
- Bakteri mikroaerofilik yang tumbuh baik pada tekanan oksigen rendah, tekanan oksigen tinggi dapat menghambat pertumbuhan

5. Kelembaban

   Konsentrasi larutan yang aktif secara osmotik di dalam sel bakteri umumnya lebih tinggi dari konsentrasi di luar sel. Sebagian besar bakteri, kecuali pada Mycoplasma dan bakteri yang mengalami kerusakan dinding selnya, tidak toleran terhadap perubahan osmotik dan akan mengembangkan sistem transpor kompleks dan alat pengatur sensor-osmotik untuk memelihara keadaan osmotik konstan dalam sel.

Pertumbuhan mikroorganisme secara umum dapat dibagi menjadi enam fase, yakni (Waluyo, 2004):

- Fase I :fase adaptasi (fase lag)

  Bila jasad renik dipindahkan ke dalam suatu medium, mula-mula akan mengalami fase adaptasi. Fase ini untuk menyesuaikan diri dengan substrat dan kondisi lingkungan di sekitarnya. Fase ini belum terjadi pembelahan sel karena beberapa enzim mungkin belum disintesis. Jumlah sel pada fase ini mungkin tetap, tetapi kadang-kadang menurun. Lamanya fase ini bervariasi, dapat cepat atau lambat tergantung dari kecepatan penyesuaian dengan lingkungan di sekitarnya.

- Fase II :Fase Pertumbuhan awal = Fase Permulaan Pembiakan

  Setelah mengalami fase adaptasi, sel mulai membelah dengan kecepatan yang masih rendah karena baru selesai tahap penyesuaian diri.

- Fase III :Fase Pertumbuhan Logaritmik (Fase eksponensial atau Fase Pembiakan Cepat)

  Setelah mikroba menyesuaikan diri dengan lingkungan, yakni pada fase adaptasi dan fase permulaan pembiakan, maka sel jasad renik membelah dengan cepat , dimana pertambahan jumlahnya mengikuti kurva logaritmik. Pada fase ini kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh medium tempat tumbuhnya seperti pH dan kandungan nutrien, suhu dan kelembaban udara. Pada fase ini sel membutuhkan energi lebih banyak dibandingkan dengan fase lainnya, selain itu sel paling sensitif terhadap keadaan lingkungan.
- Fase IV :Fase Pertumbuhan Lambat (Fase Pembiakan Diperlambat)

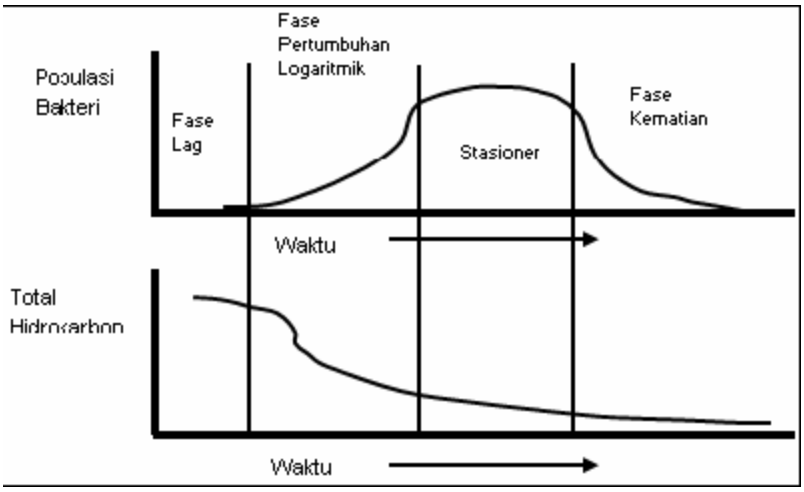
  Pada fase ini pertumbuhan jasad renik diperlambat, karena beberapa sebab, misalnya (1) zat nutrisi di dalam medium sudah sangat berkurang, (2) adanya zat hasil-hasil metabolisme yang mungkin beracun atau dapat menghambat pertumbuhan jasad renik. Pada fase ini pertumbuhan sel tidak stabil, tetapi jumlah populasi masih naik. Hal ini karena jumlah sel yang masih tumbuh lebih banyak daripada jumlah sel yang mati.
- Fase V :Fase Petumbuhan Tetap (Statis)

  Pada fase ini jumlah populasi sel tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati. Ukuran sel pada fase ini lebih kecil karena sel tetap membelah meskipun zat nutrisi sudah habis. Karena kekurangan zat nutrisi, maka kemungkinan sel tersebut mempunyai komposisi berbeda dengan sel yang tumbuh pada fase logaritma. Pada fase ini sel-sel menjadi lebih tahan terhadap keadaan ekstrim seperti panas, dingin, radiasi, dan bahan kimia.
- Fase VI :Fase Menuju Kematian dan Fase Kematian

  Pada fase ini sebagian populasi jasad renik mulai mengalami kematian karena sebab, yakni :(1)nutrien di dalam medium sudah habis, (2) energi cadangan di dalam sel habis. Jumlah sel yang mati

semakin lama akan semakin banyak, dan kecepatan kematian dipengaruhi kondisi nutrien, lingkungan, dan jenis jasad renik.

Keberadaan mikroorganisme ditentukan oleh kemampuan metabolisme tiap-tiap individu serta ketahanan terhadap metabolik toksik. Gambar 2.1 menunjukkan degradasi senyawa hidrokarbon berhubungan dengan populasi bakteri. Pada tahap awal mikroorganisme beradaptasi di lingkungan minyak heavy oil , kemudian pada saat pertumbuhan sel bakteri berada pada fase pertumbuhan logaritmik maka senyawa hidrokarbon yang ada akan semakin berkurang akibat aktifitas mikroorganisme dan pada saat mikroorganisme tersebut sudah tidak mampu mendegradasi senyawa hidrokarbon yang ada, maka pertumbuhannya akan terus menurun dan akhirnya sel bakteri tersebut akan mati.




**Gambar 2.1 Hubungan Kurva Pertumbuhan Bakteri dengan Total Hidrokarbon**

Salah satu faktor penting dalam pertumbuhan bakteri adalah nilai pH. Bakteri memerlukan pH optimum (6,5 – 7,5) untuk tumbuh optimal. Nilai pH minimum dan maksimum untuk pertumbuhan kebanyakan spesies bakteri adalah 4 dan 9. Pengaruh pH terhadap pertumbuhan bakteri ini berkaitan dengan aktivitas enzim. Enzim ini dibutuhkan oleh beberapa bakteri untuk mengkatalis

reaksi-reaksi yang berhubungan dengan pertumbuhan bakteri. Apabila pH dalam suatu medium atau lingkungan tidak optimal maka akan mengganggu kerja enzim-enzim tersebut dan akhirnya mengganggu pertumbuhan bakteri itu sendiri (Pelczar & Chan, 1986)

### 1.7. Nilai pH Sebagai Faktor Fisik Pertumbuhan Bakteri

Pertumbuhan maupun kelangsungan hidup bakteri dan mikroorganisme sangat dipengaruhi oleh pH lingkungan. Masing-masing spesies memiliki kemampuan untuk tumbuh dalam kisaran pH tertentu, yang mungkin luas atau terbatas, dengan pertumbuhan paling cepat terjadi dalam rentang optimal yang sempit. Kisaran pH yang spesifik untuk bakteri yaitu antara 4 sampai 9, dengan optimalnya yaitu 6,5 sampai 7,5. Jamur, kapang, dan ragi lebih senang berada pada lingkungan asam, dengan aktifitas optimum berada pada pH 4 hingga 6 (Cappuccino, 2001).

Karena nilai pH lingkungan yang netral dan mendekati netral umumnya menguntungkan untuk pertumbuhan mikroorganisme, pH media pada laboratorium sering disesuaikan sekitar 7. Aktifitas metabolik oleh mikroorganisme akan menghasilkan zat sisa, seperti asam dari degradasi karbohidrat dan alkali dari pemecah protein. Hal tersebut akan menyebabkan perubahan pH sehingga dapat merusak pertumbuhan. Untuk memperlambat perubahan pH, zat-zat kimia yang bertindak sebagai *buffer* sering dimasukkan ketika mempersiapkan media. Sistem *buffering* pada umumnya melibatkan penambahan $K_2HPO_4$ sebagai garam basa lemah dan $KH_2PO_4$sebagaigaram asam lemah (Cappuccino, 2001).

Pada media pertumbuhan yang telah menjadi asam, senyawa $K_2HPO_4$ menyerap kelebihan $H^+$ untuk membentuk garam asam lemah dan garam kalium dengan anion asam kuat.

$$K_2HPO_4 + HCl \rightarrow KH_2PO_4 + KCl$$

Sedangkan pada media yang telah menjadi alkali (basa), $KH_2PO_4$membebaskan $H^+$ untuk membentuk air dengan kelebihan $OH^-$dan sisa sebagian garam asam lemah bergabung dengan kation alkali (Cappuccino, 2001).

$$KH_2PO_4 + KOH \rightarrow K_2HPO_4 + H_2O$$

## 1.8. Media Pertumbuhan Bakteri

### 1.8.1. Pengertian Media

Media merupakan nutrient yang dibutuhkan mikroorganisme untuk pertumbuhan secara in vitro. Fungsi media secara kualitatif, digunakan untuk isolasi dan identifikasi mikroorganisme dan secara kualitatif, digunakan untuk perbanyakan dan perhitungan jumlah mikroorganisme. Ketersediaan media ada 2 macam, yaitu (Harti, 2015) :

1. Media konvensional, merupakan media dibuat berdasarkan komposisi nutrient, ditimbang, dilarutkan, didistribusikan dalam wadah dan disterilisasi
2. Media praktis, ada 2 jenis:
   a. Media *ready made*: media dalam bentuk instan, ditimbang dan dilarutkan dan disterilisasi
   b. Media *ready use:* media dalam bentuk siap pakai dan steril, biasanya dalam wadah disposabel

### 2.8.2. Penggolongan Media

1. Berdasarkan konsistensi, ada 3 macam (Harti, 2015):
   a. Media padat (*solid media*), mengandung agar-agar 1,2-1,5%, biasanya dalam bentuk plate agar (lempeng agar) atau slant agar (agar miring)
   b. Media semi padat (*semi solid media*), mengandung agar-agar 0,6-0,75%, contoh: media SIM (Sulfida, Indol, Motilitas) untuk pengamatan motilitas
   c. Media cair (*liquid media*), tanpa mengandung bahan pemadat, contoh: media Nutrien cair, BHI (*Brain Heart Infusion*)

2. Berdasarkan bahan penyusunnya, ada 2 macam:
   a. Media alami, terdiri dari bahan-bahan alami contoh ekstrak kentang, sari wortel, ekstrak daging

b. Media sintetis atau *chemically defined media*, terdiri dari bahan-bahan yang telah diketahui komposisinya

3. Berdasarkan sifat dan fungsinya:
   a. Media transport, merupakan media untuk pengiriman spesimen atau sampel, contoh: Nutrien cair, Carry and Blair media, media Stuart, dan lain sebagainya
   b. Media diperkaya (*enrichment media*), merupakan media kompleks atau nutrien lengkap antara lain penambahan darah, berfungsi untuk memperbanyak dan mempersubur mikroorganisme, contohnya media BHI
   c. Media eksklusif (*exclusive media*), merupakan media dengan penambahan bahan tertentu untuk pertumbuhan organisme
   d. Media selektif dan diferensial (*selective and differential media*), merupakan media dengan penambahan zat penghambat atau senyawa tertentu, sehingga dapat digunakan untuk membedakan golongan atau sifat mikroorganisme. Contohnya Endo Agar, untuk pertumbuhan bakteri batang, dan Gram negative sehingga koloni *Escherichia Coli* dapat berwarna merah metalik
   e. Media umum (universal media), merupakan media dengan bahan yang dapat dipakai untuk pertumbuhan kelompok mikroorganisme, contoh: Nutrient Agar untuk pertumbuhan bakteri, dan PDA (Potato Dextrose Agar) untuk pertumbuhan jamur
   f. Media pengujian (assay media), merupakan media untuk pengujian sifat-sifat fisiologis mikroorganisme atau reaksi biokimiawi, contoh: media biokimia (Citrat Agar, SIM)
   g. Media perhitungan jumlah, merupakan media untuk menghitung jumlah sel secara tidak langsung, contoh metode plate count menggunakan PCA (Plate Count Agar) untuk perhitungan jumlah bakteri

h. Media pertumbuhan bakteri anaerob (reducing media), merupakan media yang mengandung senyawa pengikat oksigen dalam media, contoh: medium tioglikolat untuk pertumbuhan bakteri anaerob
i. Media minimal (minimal media), merupakan media yang mengandung senyawa mineral tertentu dan digunakan untuk menumbuhkan golongan bakteri tertentu biasanya bakteri tanah, contohnya media M9
j. Media kompleks (complex media)
k. Media yang mengandung bahan-bahan alami/senyawa kompleks dan senyawa sintetis tertentu, contoh: media Dulbeco untuk kultur sel epitel.

## 1.9. Karakteristik dan Kandungan Crude Oil

Crude oil terdiri dari campuran beberapa senyawa kimia yang kompleks. Masing – masing crude oil mempunyai campuran yang unik dan berbeda antara sampel satu dengan yang lainnya. Misalnya, dua sampel crude oil yang telah dikarakterisasi oleh American Petroleum Institute seperti yang ditunjukkan pada gambar 1. Meskipun titik didih dari masing-masing sampel sama, tetapi tiap sampel mempunyai komposisi hidrokarbon dan kandungan sulfur yang berbeda.

A. Senyawa hidrokarbon

(i) Alkana (paraffins),

merupakan hidrokarbon jenuh dengan rantai lurus atau bercabang, tanpa struktur cincin. Proporsi hidrokarbon paraffin dalam crude oil bervariasi, biasanya akan menurun seiring dengan peningkatan berat molekul dan akan mengalami peningkatan seiring dengan aromatisitas dan proporsi heteroatomnya (nitrogen, oksigen, dan belerang). Alkana umumnya tidak ditemukan dalam minyak mentah (Speight, 1980)

(ii) Cycloalkanes (naphthenes)

Hidrokarbon jenuh yang mengandung satu atau lebih cincin, masing-masing cincin memiliki satu atau lebih rantai paraffinic (dikenal

sebagai *alicyclic hydrocarbon*). Komposisi sikloalkana dalam crude oil biasanya bervariasi dari 30 % sampai dengan 60 %.

(iii) Aromatic hydrocarbons

Adalah hidrokarbon yang mengandung satu atau lebih inti aromatik, seperti benzena. Konsentrasi benzena dalam minyak mentah telah dilaporkan berkisar antara 0,01% dan 1%.

B. Senyawa non – hidrokarbon

(i) Sulfur

Kandungan sulfur dalam crude oil berkisar antara < 0,1 % sampai dengan 10 % berat. Jenis senyawa sulfur yang telah teridentifikasi dalam minyak mentah yaitu : thiols (merkaptan), disulfides and thiophenes.

(ii) Nitrogen

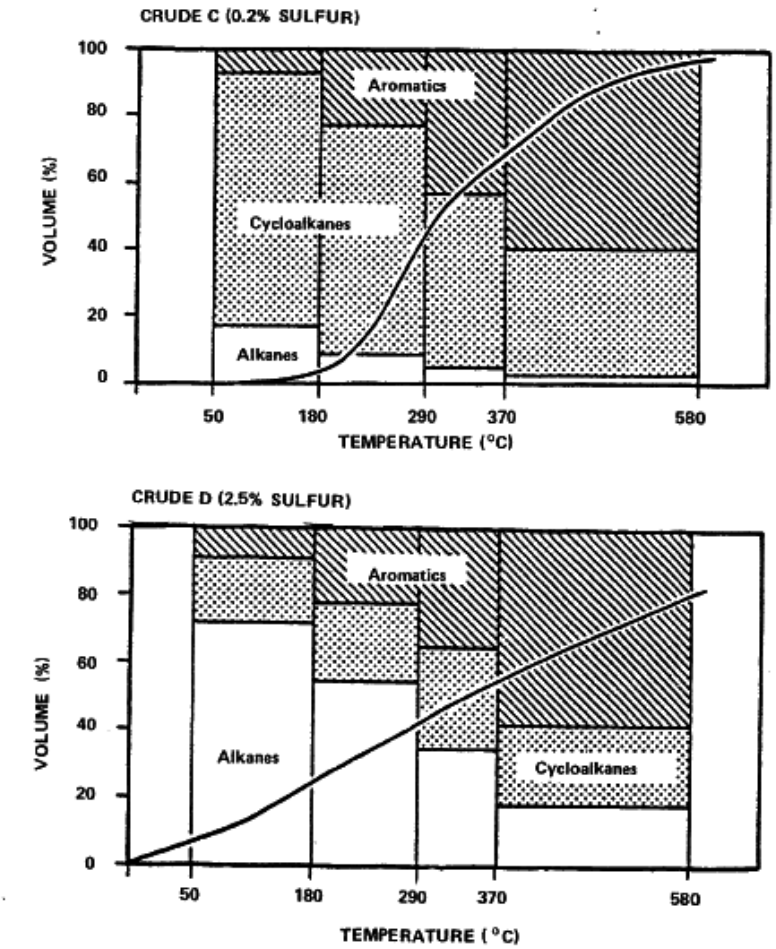
Kandungan nitrogen di dalam crude oil berkisar dari sekelumit sampai 0,9 % berat. Sebagian besar nitrogen dalam pecahan yang mendidih di bawah sekitar 200°C adalah dasar nitrogen. Senyawa dasar nitrogen yang sering ditemukan dalam crude oil termasuk pyridines dan quinolines, misalnya 3-methylpyridine dan quinoline, sementara senyawa nonbasic nitrogen meliputi pyrroles, indole, dan carbazoles, misalnya karbazol dan amides.

(iii) Oksigen

Kandungan oksigen dalam crude oil berkisar antara 0,06 % sampai 0,4 % berat, sebagian besar komponen yang menjadi alkana dan asam cycloalkane (naphthenic). Komponen lainnya termasuk keton dan fenol.

(iv) Senyawa logam

Ada beberapa senyawa logam yang dapat ditemukan pada crude oil. Senyawa nikel dan vanadium telah teridentifikasi dalam crude oil dari kisaran sedikit ppm hingga 200 ppm (mg/kg) nikel dan hingga 1200 ppm (mg/kg) vanadium.




**Gambar 2.2. Karakteristik dari Dua Sampel Crude Oil**

## 1.10. *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH)

TPH digunakan untuk mewakili campuran hidrokarbon yang ditemukan dalam minyak mentah. TPH terdiri dari hidrokarbon minyak volatil (biasanya mengandung hidrokarbon dari ($C_2$-$C_5$) dan hidrokarbon minyak extractable (biasanya mengandung hidrokarbon dari C6-C40) (Wang Sih-Yu *et al*, 2016). Menurut Handrianto, 2012, Total Petroleum Hydrocarbon (TPH) ialah merupakan pengukuran konsentrasi pencemar hidrokarbon minyak bumi dalam tanah atau serta seluruh pencemar hidrokarbon minyak dalam suatu sampel tanah yang sering dinyatakan dalam satuan mg hidrokarbon/kg tanah.

Teknik TPH yang utama termasuk gravimetric dan metode spektroskopi inframerah. Teknik tersebut adalah metode yang telah diterima secara luas dengan cepat menghitung minyak karena sederhana dan membutuhkan biaya yang rendah. Namun, metode ini memberi sedikit informasi tentang komponen minyak, menunjukkan batas deteksi tinggi, dan rentan terhadap berbagai gangguan. Selain itu metode gravimetrik dan metode spektroskopi inframerah tidak mampu membedakan antara kerugian abiotik dan biotik.

# BAB III

# METODE PENELITIAN

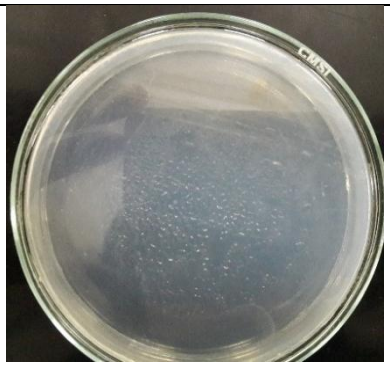
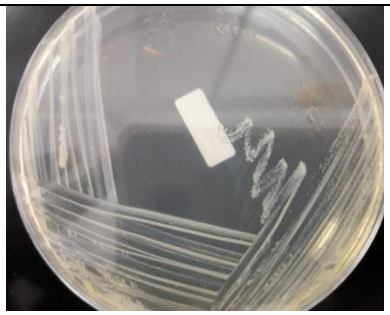
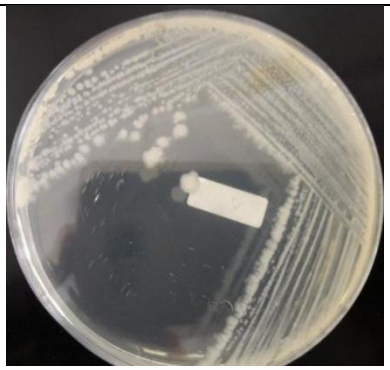
## 3.1. Koleksi Sampel

Bakteri yang digunakan dalam penelitian merupakan koleksi bakteri yang ada di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Universitas Islam Indonesia. Bakteri tersebut berasal dari sampel *crude oil* murni hasil penambangan minyak bumi milik warga lokal Desa Talang Sungaiangit, Kecamatan Babat Toman, Kabupaten Musi Banyuasin, Provinsi Sumatera Selatan. Bakteri yang ditemukan dari *crude oil* selanjutnya diisolasi, diberi nama, dan diamati morfologinya. Hasilnya seperti yang tertera pada tabel 3.1 di bawah ini :

**Tabel 3.1. Morfologi Bakteri yang Digunakan dalam Penelitian**

| Nama Koleksi | Nama pada Reaktor | Bentuk Koloni | Permukaan Koloni | Tepi Koloni | Struktur Bagian Tengah | Warna Koloni | Kepadatan Koloni |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| PCOB 1 | isolat 1 | Bulat | Datar | Utuh | Halus | Putih gading | Liat |
| PCON 5 | isolat 2 | Bulat | Datar | Utuh | Halus | Putih gading | Lendir |
| PCON 6 | isolat 3 | Tidak teratur, serupa akar | Datar | Berombak | Halus | Putih gading | Lendir |

**Tabel 3.2. Kultur Bakteri dari Crude Oil Murni**

| No | Kode | Media | Gambar |
|---|---|---|---|
| 1 | PCOB 1 | BHMS |  |
| 2 | PCON 5 | NA |  |
| 3 | PCON 6 | NA |  |

## 1.2. Alat dan Bahan

### a. Pembuatan Media dan Sterilisasi

Alat :

1. Erlenmeyer 1000ml (3 buah)
2. Pengaduk kaca
3. Cawan timbang
4. Spatula
5. Timbangan analitik
6. Autoklaf
7. Kapas
8. Kertas sampul
9. Karet

Bahan :

1. Media NB (*Nutrient Broth*) : 13 gram NB per liter aquades
2. Media BHMS (*Bushnell Haas Mineral Salt*) (Hamdani *et al*, 2015) : 0,2 gram $MgSO_4.7H_2O$; 0,02 gram $CaCl_2$; 1 gram $KH_2PO_4$; 1 gram $K_2HPO_4$, 1 gram $NH_4NO_3$, dan 2 tetes $FeCl_3$ 60 % per liter air suling.
3. Media HP (*High Phosphate*) (Kardena, 1995): 12,5 gram $K_2HPO_4$; 3,8 gram $KH_2PO_4$; 1 gram $(NH_4)_2SO_4$; 0,1 gram $MgSO_4$; trace element 10 ml. Trace elements yang digunakan terdiri dari (g/Liter) : 12 gram $Na_2EDTA$, 2 gram NaOH, 1 gram $MgSO_4.7H_2O$; 0,4 gram $ZnSO_4.7H_2O$; 0,1 gram $CuSO_4.5H_2O$; 10 gram $Na_2SO_4$; 0,1 $NaMoO_4.6H_2O$; 2 gram $FeSO_4.7H_2O$; 0,4 gram $MnSO_4.4H_2O$; 1 gram $CaCl_2$.
4. Aquades

**b. Pengukuran Turbiditas**

Alat :

1. Turbidimetri
2. Pipet ukur 10 ml
3. Karet hisap
4. Tissue
5. Botol aquades

Bahan :

1. Sampel uji masing-masing 10 ml
2. Aquades

**c. Pengukuran TPH (*Total Petroleum Hydrocarbons*)**

Alat :

1. Timbangan analitik
2. Pipet ukur 10 ml
3. Karet hisap
4. Orbital shaker
5. Desikator
6. Krustang
7. Gelas beaker (45 buah)

Bahan :

1. N-heksana
2. Sampel uji

**d. Pengukuran pH**

Alat :

1. Indikator pH (pH universal)
2. Pipet ukur 5 ml
3. Karet hisap

Bahan :

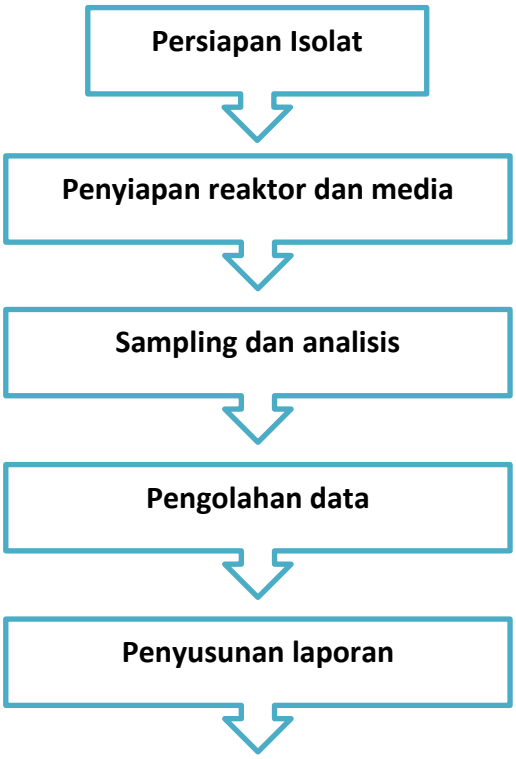
1. Sampel 5 ml

### 3.3. Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Program Studi Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Universitas Islam Indonesia, yang bertempat di Jalan Kaliurang km 14, Kampus Terpadu UII.

### 3.4.Tahapan Penelitian

Berikut diagram alir tahapan penelitian secara keseluruhan untuk mengetahui karakteristik bakteri :




#### 3.4.1. Persiapan Isolat

Sampel bakteri dalam NA miring dan agar BHMS miring diinokulasikan ke dalam media NB steril dan di*shaker* selama 6 jam

sebelum dimasukkan ke masing – masing reaktor. Inokulasi bakteri dilakukan dengan cara steril di dekat api bunsen menggunakan jarum oose.

### 3.4.2. Penyiapan Reaktor dan Media

Reaktor berupa botol vial yang telah diberi label kode, ditimbang untuk mengetahui berat awal dari tiap reaktor, ditutup kapas, dan disterilkan dalam oven pada temperatur 105°C selama 60 menit. Seluruh reaktor berjumlah 48 dengan pengukuran T0 (hari ke-0) sampai dengan T4 (hari ke-28) sebagai reaktor perlakuan ditambah 3 reaktor kontrol. Komposisi media, *crude oil*, dan isolat bakteri yang dimasukkan ke dalam reaktor perlakuan dan reaktor kontrol pada tiap kodenya tertera di tabel 3.2 di bawah ini :

**Tabel 3.3. Komposisi Larutan pada Tiap Reaktor**

| Kode Reaktor | Komposisi | | |
|---|---|---|---|
| | Media | Crude Oil | Bakteri |
| NB.1 | 28,5 ml Nutrient Broth | 1,5 ml | 1 ml isolat 1 |
| NB.2 | 28,5 ml Nutrient Broth | 1,5 ml | 1 ml isolat 2 |
| NB.3 | 28,5 ml Nutrient Broth | 1,5 ml | 1 ml isolat 3 |
| BHMS.1 | 28,5 ml BHMS | 1,5 ml | 1 ml isolat 1 |
| BHMS.2 | 28,5 ml BHMS | 1,5 ml | 1 ml isolat 2 |
| BHMS.3 | 28,5 ml BHMS | 1,5 ml | 1 ml isolat 3 |
| HP.1 | 28,5 ml High Phosphate | 1,5 ml | 1 ml isolat 1 |
| HP.2 | 28,5 ml High Phosphate | 1,5 ml | 1 ml isolat 2 |
| HP.3 | 28,5 ml High Phosphate | 1,5 ml | 1 ml isolat 3 |

| Kode Reaktor | Komposisi | | |
|---|---|---|---|
| | Media | Crude Oil | Bakteri |
| K.NB | 28,5 ml Nutrient Broth | 1,5 ml | - |
| K.BHMS | 28,5 ml Bushnell Haas Mineral Salt | 1,5 ml | - |
| K.HP | 28,5 ml High Phosphate | 1,5 ml | - |



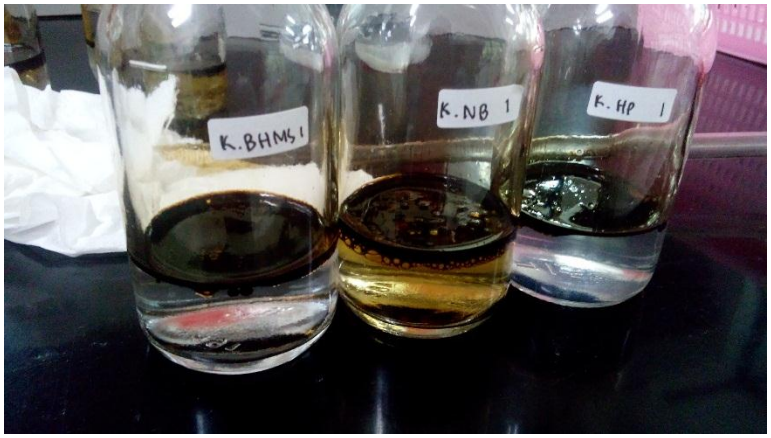

**Gambar 3.1. Reaktor Media Nutrient Broth (NB)**




**Gambar 3.2. Reaktor Media Bushnell Haas Mineral Salt (BHMS)**




**Gambar 3.3. Reaktor Perlakuan Media High Phosphate (HP)**




**Gambar 3.4. Reaktor Kontrol Media NB, BHMS, dan HP**

### 3.4.3. Sampling dan Analisa

Dalam memperoleh data, dilakukan sampling dengan frekuensi pengukuran turbiditas, pH, dan TPH yaitu 1 kali per minggu. Tahapan yang di lakukan adalah sebagai berikut :

1. **Pengukuran turbiditas**

   Sebanyak 10 ml sampel media dimasukkan ke dalam kuvet turbidimeter. Diukur turbiditasnya dan dicatat hasilnya.

Pengukuran turbiditas (kekeruhan) dilakukan untuk mengetahui adanya bakteri yang terdapat dalam media.

2. **Pengukuran nilai pH**

   Alat ukur pH (pH universal) dimasukan ke dalam 10 ml sampel media. Dicocokkan warnanya, kemudian dicatat hasilnya.

3. **Pengukuran kadar TPH (*Total Petroleum Hydrocarbon*)**

   Pengukuran kadar TPH menggunakan metode gravimetri. Sebanyak 10 ml n-heksana ditambahkan ke dalam reaktor (botol vial). Dishaker menggunakan orbital shaker selama 30 menit. Selanjutnya, dilakukan pemisahan antara minyak dan media dengan mengambil media dari botol vial. Media yang terpisah dari minyak diletakkan pada erlenmeyer untuk ditambahkan 10 ml n heksana kembali agar minyak yang masih terkandung dalam media dapat diambil. Minyak yang masih tertinggal dalam media diambil dan dimasukkan ke dalam botol vial. Botol vial yang berisi minyak dalam larutan n heksana dioven pada suhu 70°C (titik didih n-heksana) selama 2 jam untuk menghilangkan kandungan heksana dalam minyak.Selanjutnya di masukkan ke dalam desikator selama 30 menit agar media yang masih tersisa dapat hilang. Reaktor yang berisi minyak tersebut kemudian ditimbang untuk mengetahui berat akhir.

### 3.4.4. Pengolahan Data

Setelah mendapatkan data turbiditas media dari minggu ke 0 sampai minggu ke 4, kemudian dibuatlah kurva turbiditas terhadap waktu. Analisa hasil TPH yang terdegradasi dihitung dengan selisih berat botol reaktor dibagi berat awal seluruh media, inokulum dan substrat yang dimasukkan ke reaktor. Perhitungan konsentrasi penurunan TPH dilakukan dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$\textbf{Konsentrasi penurunan TPH (\%)} = \frac{\mathbf{b-a1}}{\mathbf{grsampel}}\mathbf{x\ 100}$$

Keterangan :

a1 = berat botol vial awal sebelum dioven (gram)

b = berat botol vial berisi supernatant setelah dioven (gram)

Selanjutnya reduksiTPH dari hari ke-0 sampai dengan hari ke-28 dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\textbf{Penurunan TPH (\%)} = \frac{TPH_{day0} - TPH_{day28}}{TPH_{day0}}\mathbf{x\ 100}$$

Keterangan :

TPH day0 = kadar TPH pada hari ke-0

TPH day28 = kadar TPH pada hari ke-28

Untuk mengetahui netto penurunan TPH, digunakan rumus sebagai berikut :

$$\boldsymbol{TPHnett = TPH(p) - TPH(k)}$$

Keterangan :

TPHnett = penurunan TPH netto (%)

TPH(p) = penurunan TPH reaktor perlakuan (%)

TPH(k) = penurunan TPH reaktor control (%)

### 3.5. Variabel Penelitian

Variabel yang dapat ditentukan dalam penelitian ini adalah :

A. Variabel bebas, yaitu :
   1. Perlakuan dengan jenis isolat yang ditumbuhkan dalam masing – masing media (isolat 1, isolat 2, dan isolat 3)
   2. Jenis media untuk pertumbuhan bakteri (*Nutrient Broth*, BHMS (*Bushnell Haas Mineral Salt*), dan HP (*High Phosphate*))

B. Variabel kontrol

1. Menggunakan suhu ruangan 27°C
2. Tidak terkena sinar matahari langsung
3. Dilakukan selama 28 hari

## 3.6. Parameter Penelitian

Parameter yang akan diperiksa dalam penelitian ini adalah :

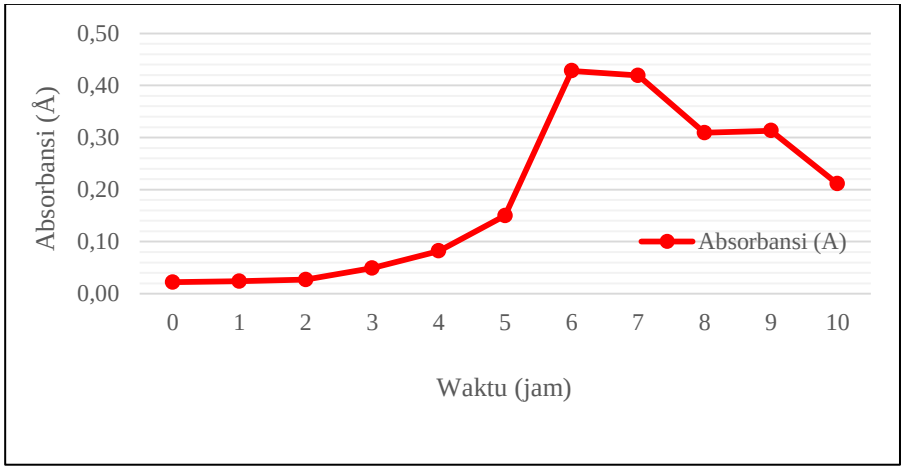
1. Nilai pH
2. Total Petroleum Hydrocarbon (TPH)
3. Turbiditas
4. Suhu

# BAB IV

# HASIL DAN PEMBAHASAN

## 1.1. Persiapan Bakteri Untuk Bioremediasi

Bakteri yang digunakan dalam penelitian merupakan bakteri yang ditemukan dari *crude oil* murni hasil penambangan warga desa Talang Sungaiangit. Juliani, dkk (2016) berhasil melakukan isolasi terhadap 7 bakteri tersebut. Selanjutnya, hanya 3 bakteri yang digunakan sebagai percobaan. Inokulum bakteri yang telah diisolasi dalam NA miring dan agar BHMS miring di masukkan ke dalam reaktor ketika bakteri berada dalam fase logaritmik atau di awal fase stasioner (Juliani dkk, 2016). Fase logaritmik adalah fase ketika sel bakteri mengalami pembelahan sel secara maksimal dan awal fase stasioner menunjukkan awal fase dimana sel mengalami pertumbuhan yang statis, yaitu ketika jumlah sel yang hidup sama dengan jumlah sel yang mati (Waluyo, 2004). Kurva pertumbuhan di bawah ini menunjukkan pemindahan inokulum ke reaktor dilakukan setelah jam ke-enam.




Sumber: Juliani, dkk (2016)

**Gambar 4.1. Kurva Pertumbuhan Bakteri**

## 1.2. Hasil dan Analisa Pertumbuhan Bakteri

Pertumbuhan secara umum dapat didefinisikan sebagai pertambahan secara teratur semua komponen di dalam sel hidup. Perbanyakan sel adalah konsekuensi pertumbuhan (Waluyo, 2014). Metode Turbidimetri digunakan untuk analisis jumlah sel bakteri, dimana OD (*Optical Density*) berbanding lurus dengan jumlah sel. Kekeruhan umumnya diukur dengan menggunakan *turbidity meter* atau turbidimeter. Turbidimeter merupakan nephelometer modern. Jumlah cahaya yang tersebar di sudut kanan oleh partikel-partikel kekeruhan terukur dan terdaftar sebagai *Nephelometric Turbidity Units* (NTU) (Spellman, 2014).

Kelebihan metode turbidimetri yaitu cepat dan tidak membutuhkan teknik yang terlalu banyak apabila dibandingkan dengan perhitungan sel bakteri menggunakan hitungan cawan. Di samping itu, umumnya kerugian yang utama dari penggunaan metode ini adalah jumlah total bakteri termasuk sel yang hidup dan yang mati (Cappuccino, 2001). Pengukuran jumlah sel bakteri menggunakan turbidimeter dilakukan dalam rentang waktu 1 kali per minggu selama 28 hari dengan hasil sebagai berikut :

**Tabel 4.1. Hasil Uji Kekeruhan Reaktor Perlakuan dan Kontrol**

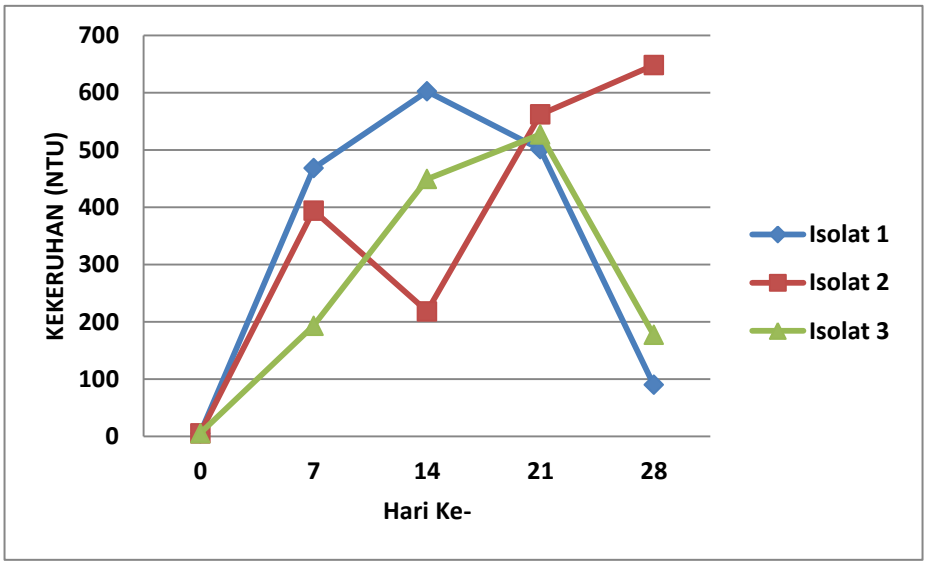
| No | Kode Reaktor | Kekeruhan (NTU) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Hari Ke - 0 | Hari Ke - 7 | Hari Ke – 14 | Hari Ke – 21 | Hari Ke - 28 |
| 1 | NB.1 | 5,23 | 468 | 602 | 501 | 90 |
| 2 | NB.2 | 5,23 | 394 | 218 | 562 | 648 |
| 3 | NB.3 | 5,23 | 193 | 449 | 527 | 177 |
| 4 | BHMS.1 | 18,1 | 52 | 66 | 83 | 96 |
| 5 | BHMS.2 | 18,1 | 39,72 | 32,81 | 106 | 98 |
| 6 | BHMS.3 | 18,1 | 36,06 | 57 | 104 | 68 |
| 7 | HP.1 | 4,79 | 34,86 | 28,82 | 39,03 | 27,11 |
| 8 | HP.2 | 4,79 | 26,17 | 34,34 | 31,05 | 28,97 |
| 9 | HP.3 | 4,79 | 30,85 | 29,16 | 116 | 120 |
| 10 | K.NB | 5,23 | | | | 162 |
| 11 | K.BHMS | 18,1 | | | | 49,80 |
| 12 | K.HP | 4,79 | | | | 18,57 |

Berdasarkan tabel hasil uji kekeruhan reaktor perlakuan, pada pengukuran hari ke-28 reaktor NB.2 memberikan hasil kekeruhan yang paling besar, yaitu 648 NTU. Selanjutnya reaktor NB.3 menunjukkan hasil kekeruhan terbesar kedua, yaitu 177 NTU. Dari hasil tersebut dapat dikatakan bahwa bakteri yang mengalami pertumbuhan paling banyak adalah bakteri yang ditumbuhkan dalam media *Nutrient Broth*. Hal ini dikarenakan *Nutrient Broth* mengandung karbohidrat, nitrogen, protein dan bermacam-macam vitamin yang berfungsi untuk memberikan nutrisi bagi pertumbuhan bakteri. Pertumbuhan bakteri pada reaktor HP.3 juga memberikan hasil terbesar diantara bakteri lain yang tumbuh di media *High Phosphate*, ditunjukkan dengan kekeruhan sebesar 120 NTU, hal ini dikarenakan media *High Phosphate* merupakan media dengan kapasitas buffer pH tinggi. Dengan kata lain, media *High Phosphate* mempertahankan media dalam kondisi pH yang tetap netral, meskipun terjadi perubahan pH akibat aktifitas metabolisme bakteri. Nilai pH masing-masing media akan dibahas pada sub bab selanjutnya.

### 1.3. Analisis Turbiditas Bakteri pada Media NB, BHMS, dan HP

Media *Nutrient Broth* merupakan media yang umum digunakan untuk kultivasi (budidaya) berbagai organisme. *Gelatin peptone* dan *beef extract* yang ada di dalamnya, menyediakan nitrogen, berbagai vitamin, mineral dan asam amino yang penting untuk pertumbuhan (Marshall, 1993). Gambar 4.2 di bawah ini menunjukkan grafik hubungan kekeruhan terhadap waktu untuk bakteri yang tumbuh pada media *Nutrient Broth*. Grafik menunjukkan, kekeruhan bakteri isolat 1 terus mengalami peningkatan hingga hari ke-14, dilihat dari turbiditasnya mencapai 602 NTU. Sama halnya dengan bakteri isolat 3 yang turbiditasnya mencapai 527 NTU pada hari ke-21. Sedangkan bakteri isolat 2 hingga hari ke-28 terus mencapai pertumbuhan, sesuai dengan turbiditasnya yang tetap meningkat hingga 648 NTU pada akhir masa pengukurannya, yaitu hari ke-28. Dilihat dari grafik turbiditas ketiga isolat bakteri dalam media NB di bawah ini, menunjukkan bahwa bakteri isolat 1, 2,

dan 3 mengalami pertumbuhan yang sangat baik pada media *Nutrient Broth*. Cappuccino (2001), menyatakan bahwa media *Nutrient Broth* merupakan media yang mampu mendukung pertumbuhan sebagian besar heterotrof, karena terbuat dari ekstrak hewan yaitu *beef extract* sebagai sumber karbon organik, nitrogen, dan berbagai vitamin.

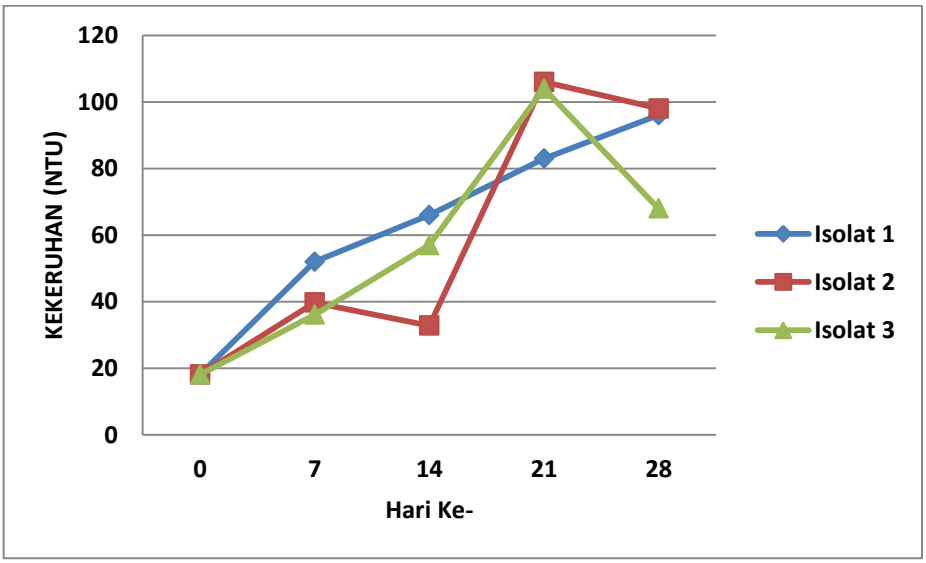



**Gambar 4.2. Grafik Hubungan Kekeruhan terhadap Waktu pada Media Nutrient Broth**

L.D Bushnell dan H.F Haas (1940) menyatakan bahwa metode yang paling berhasil mengisolasi organisme yang mampu memanfaatkan hidrokarbon adalah dengan menggunakan media pengayaan garam mineral, dimana hidrokarbon menjadi satu-satunya sumber karbon dan energi bagi pertumbuhan bakteri. Media garam mineral yang merupakan air laut buatan ini selanjutnya disebut dengan *Bushnell Haas Mineral Salt*. Grafik kekeruhan terhadap waktu bakteri isolat 1, isolat 2, dan isolat 3 yang ditumbuhkan dalam media BHMS dapat dilihat pada gambar 4.3 berikut ini. Berdasarkan grafik, bakteri isolat 1 mengalami pertumbuhan sejak hari ke-0 hingga hari ke-28 tanpa ada penurunan turbiditas. Tetapi, angka turbiditas terbesarnya hanya mencapai 96 NTU pada hari ke-28. Berbeda dengan bakteri isolat 2 dan isolat

3 yang mengalami fase penurunan turbiditas setelah hari ke-21. Kedua bakteri tersebut mencapai turbiditas tertinggi pada hari ke-21, yaitu masing-masing sebesar 106 NTU dan 104 NTU. Apabila dibandingkan dengan tingkat turbiditas bakteri pada media NB yang mencapai kisaran angka 90 – 648 NTU, bakteri pada media BHMS hanya menghasilkan angka turbiditas pada kisaran angka 32 – 106 NTU. Hal tersebut dikarenakan, media BHMS merupakan media dengan kandungan nutrisi yang sangat sedikit karena sebagian besar komposisinya merupakan garam-garam mineral.

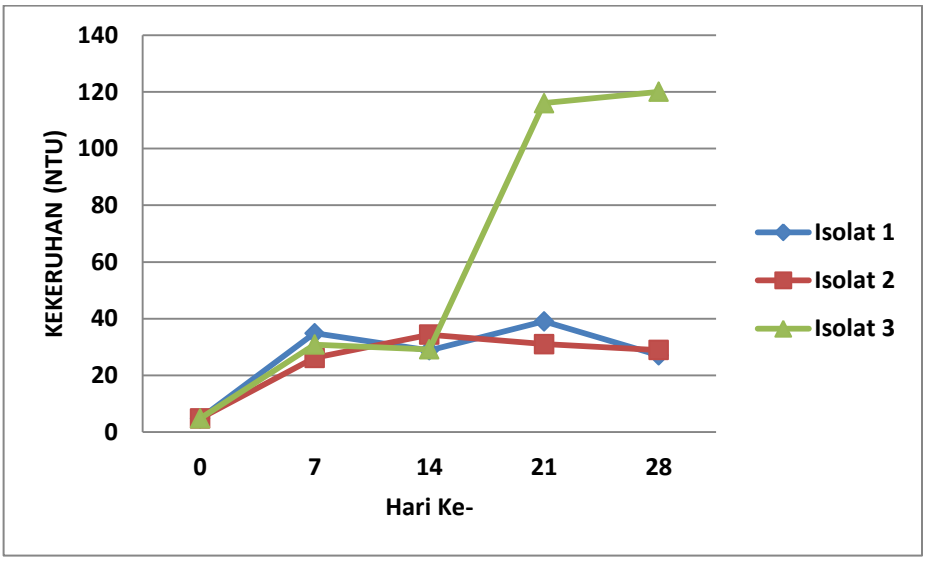
Bakteri yang mampu tumbuh dengan baik pada media BHMS merupakan bakteri laut, dan Waluyo (2009) mengemukakan bahwa kebanyakan bakteri laut dapat menggunakan kehadiran nutrien dengan konsentrasi sedikit. Kemampuan ini sebagai efek karena bakteri-bakteri tersebut biasa tumbuh di laut yang sangat miskin nutrien. Pada umumnya bakteri yang berhabitat di laut antara lain *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Spirillum*, *Achromobacter*, dan *Flavobacterium* (dalam sedimen juga ada *Bacillus*).




**Gambar 4.3. Grafik Hubungan Kekeruhan terhadap Waktu pada Media BHMS**

Media *High Phosphate* merupakan media dengan kapasitas buffer pH yang tinggi. Cappucccino (2001) menyatakan bahwa $K_2HPO_4$ dan $KH_2PO_4$ yang ditambahkan dalam komposisi media *High Phosphate* bertindak sebagai

sistem penyangga. Kurva pertumbuhan bakteri dalam media HP ditunjukkan pada gambar 4.4 di bawah ini.

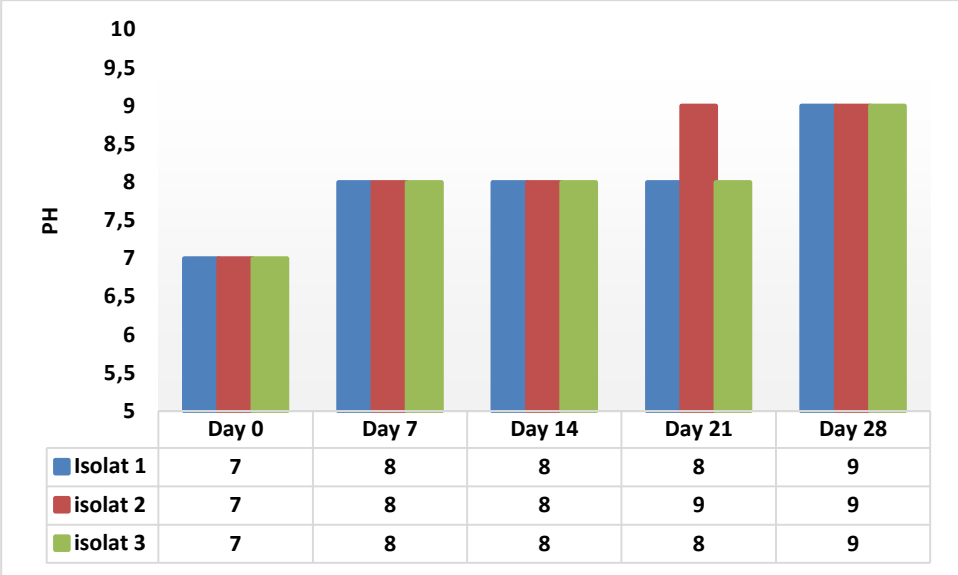



**Gambar 4.4. Grafik Hubungan Kekeruhan terhadap Waktu pada Media High Phosphate (HP)**

Pertumbuhan bakteri isolat 1 dan isolat 2 dalam media *High Phosphate*, jika dilihat dari turbiditas maksimalnya masing-masing hanya mencapai angka 39,03 NTU dan 34,34 NTU. Sedangkan untuk bakteri isolat 3 pada media HP, turbiditasnya meningkat hingga 116 NTU pada hari ke-21 dan 120 NTU pada hari ke-28. Bakteri isolat 3 tumbuh dengan baik pada media HP diantara kedua bakteri lainnya. Bakteri isolat 3 diduga merupakan bakteri *Pseudomonas* sp., sesuai dengan pernyataan Das dan Chandran (2010) yaitu *Pseudomonas* adalah bakteri yang paling dikenal mampu memanfaatkan hidrokarbon sebagai sumber energi dan karbon, serta biosurfaktan. Biosurfaktan meningkatkan kelarutan dan membersihkan polutan, dalam hal ini hidrokarbon. Selain pada media HP, bakteri isolat 3 juga menunjukkan pertumbuhan yang baik pada media lain, yaitu media NB dan BHMS, sesuai dengan pernyataan Lud Waluyo (2009), bahwa *Pseudomonas* merupakan bakteri laut, sehingga mampu tumbuh pada lingkungan yang miskin nutrisi, seperti media BHMS (media air laut buatan).

## 1.4. Hasil dan Analisa Nilai pH

Nilai pH pada media NB mengalami kenaikan hingga angka 8 pada hari ke-7 untuk media yang ditumbuhi bakteri isolat 1, 2, dan 3 dan mengalami kenaikan pH di angka 9 pada hari ke-28 untuk media yang ditumbuhi bakteri isolat 1 dan isolat 3. Sedangkan untuk media tempat tumbuh bakteri isolat 2 mengalami kenaikan nilai pH menjadi 9 lebih cepat daripada media isolat 1 dan isolat 3, yaitu pada hari ke 21. Hasil kenaikan pH media NB terdapat dalam gambar 4.5. Beberapa penelitian seperti pada penelitian Aliyanta (2011), Sudrajat (2015), Prayitno (2010), dan Handrianto (2012), menunjukkan pH lingkungan tempat hidup bakteri memang mengalami penurunan. Tetapi dalam penelitian Ayotamuno (2007), Ouyang (2005), dan Chaerun (2004), pH justru mengalami peningkatan. Ayotamuno (2007),



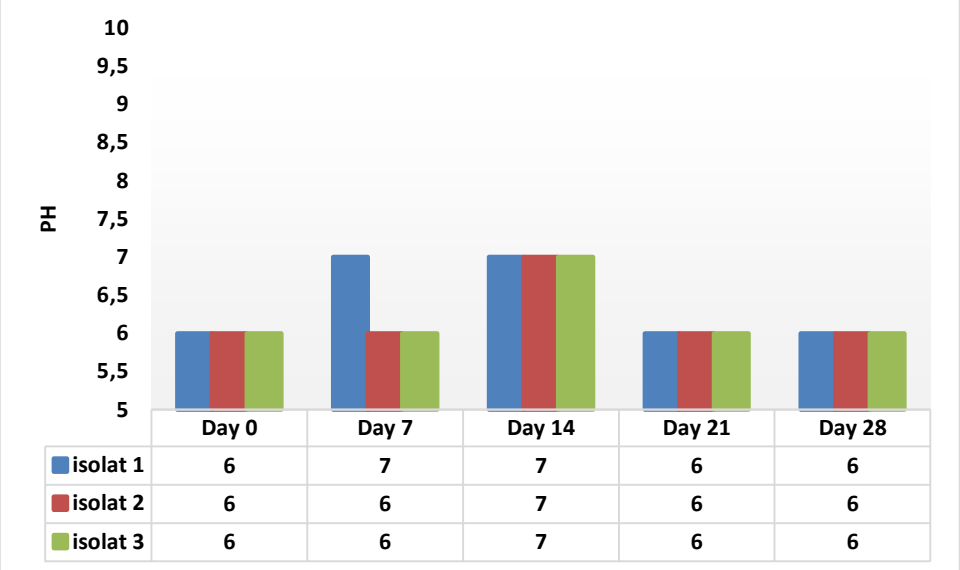

| | Day 0 | Day 7 | Day 14 | Day 21 | Day 28 |
|---|---|---|---|---|---|
| Isolat 1 | 7 | 8 | 8 | 8 | 9 |
| isolat 2 | 7 | 8 | 8 | 9 | 9 |
| isolat 3 | 7 | 8 | 8 | 8 | 9 |

**Gambar 4.5. Hasil Pengukuran Nilai pH Media Nutrient Broth**

Kenaikan nilai pH pada media *nutrient broth* pada hari ke-21 untuk bakteri isolat 2 dan hari ke-28 untuk bakteri isolat 1 dan 3 disebabkan karena kandungan nutrisi yang dibutuhkan oleh bakteri telah berkurang atau bahkan telah habis. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Ayotamuno *et al*, (2007) yaitu nilai pH minyak meningkat selama periode remediasi, yang berarti bahwa kadar nutrisi dan oksigen tidak dalam keadaan berlebih. Nilai pH minyak yang meningkat

mempengaruhi nilai pH media karena minyak telah teremulsi ke dalam media dengan bantuan biosurfaktan yang dihasilkan selama proses bioremediasi. Penelitian Ciccyliona (2012) juga menyebutkan bahwa produksi biosurfaktan dalam jumlah yang lebih banyak dilakukan pada media cair pH 8,0. Koch *et al*, (1991) menyatakan bahwa biosurfaktan mampu mengikat molekul hidrokarbon tidak larut air dan mampu menurunkan tegangan permukaan. Selain itu biosurfaktan secara ekstraseluler menyebabkan emulsifikasi hidrokarbon hingga mudah untuk di degradasi. Banyaknya minyak yang teremulsi dengan media menyebabkan kenaikan nilai pH.

Kurangnya oksigen dalam media *Nutrient Broth* juga disebabkan oleh kekeruhan yang besar, terutama yang ditumbuhi bakteri isolat 2 dengan kekeruhannya mencapai 648 NTU. Selain itu, hidrokarbon alifatik dapat mengalami degradasi hanya dengan adanya oksigen, karena pada awal proses degradasi senyawa hidrokarbon memerlukan peran enzim oksigenase dan sangat bergantung pada kehadiran molekul oksigen (Atlas, 1991).

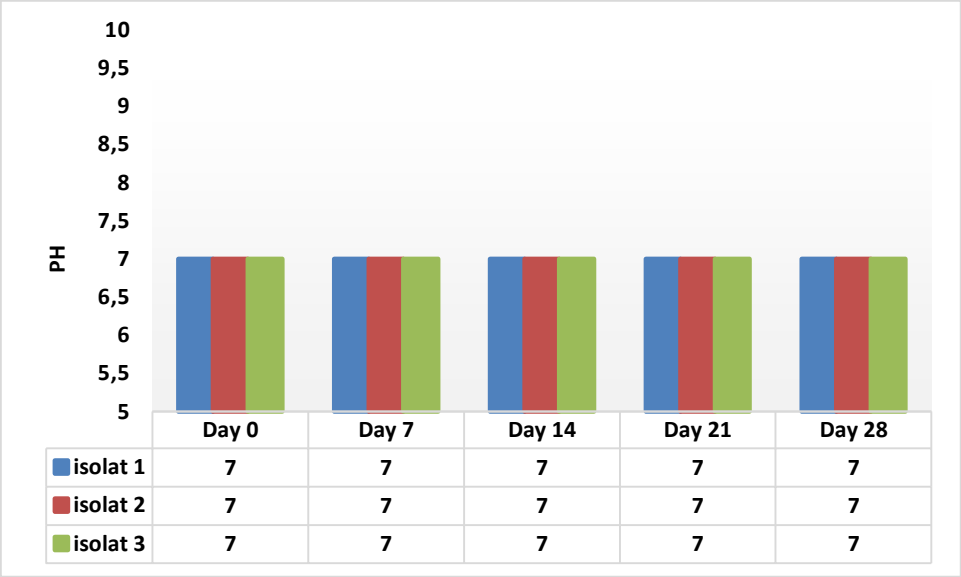



| | Day 0 | Day 7 | Day 14 | Day 21 | Day 28 |
|---|---|---|---|---|---|
| isolat 1 | 6 | 7 | 7 | 6 | 6 |
| isolat 2 | 6 | 6 | 7 | 6 | 6 |
| isolat 3 | 6 | 6 | 7 | 6 | 6 |

**Gambar 4.6. Hasil Pengukuran Nilai pH Media BHMS**

Pengukuran nilai pH media BHMS ditunjukkan pada gambar 4.6. Media BHMS semula memiliki pH 6, dan kemudian mengalami kenaikan pada angka 7 pada hari ke-7 untuk isolat 1 dan hari ke-14 untuk isolat 2 dan 3. Kenaikan nilai

pH pada media BHMS menjadi netral ini, disebabkan karena adanya komposisi $KH_2PO_4$ dan $K_2HPO_4$ yang dapat berfungsi sebagai buffer pH. Namun sistem penyangga akibat dari kedua senyawa tersebut tidak berlangsung lama dalam media BHMS karena kadarnya yang hanya sedikit, berbeda dengan media *High Phosphate* yang memang kadar $KH_2PO_4$ dan $K_2HPO_4$ yang ditambahkan cukup banyak. Nilai pH kembali turun ke angka 6 pada hari ke-21. Penurunan nilai pH tersebut disebabkan oleh aktifitas bakteri yang membentuk metabolit-metabolit asam. Biodegradasi alkana yang terdapat dalam minyak bumi akan membentuk alkohol dan selanjutnya menjadi asam lemak. Asam lemak hasil degradasi alkana akan dioksidasi lebih lanjut membentuk asam asetat dan asam propionat, sehingga dapat menurunkan nilai pH medium (Nugroho, 2009).



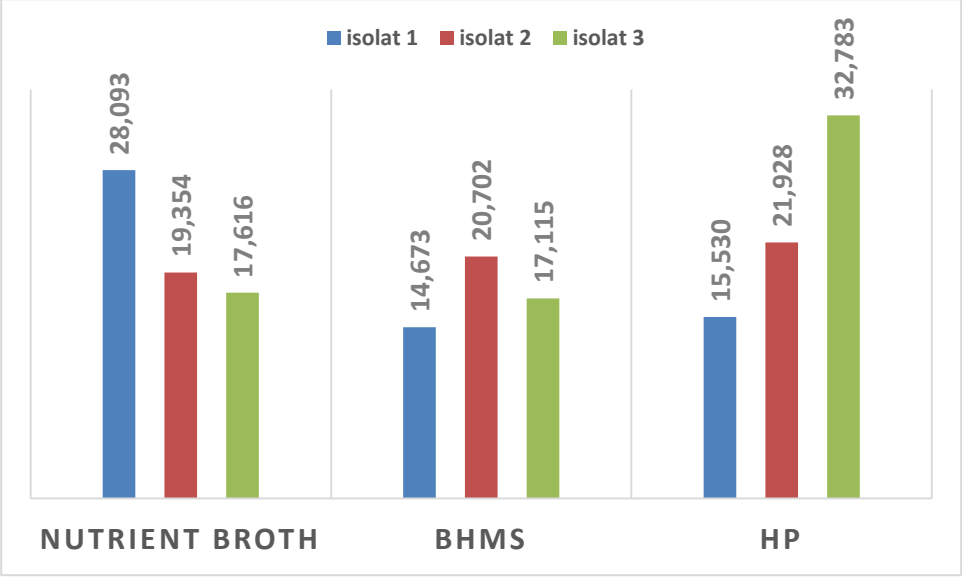

**Gambar 4.7. Hasil Pengukuran Nilai pH Media High Phosphate**

Media *High Phosphate* sesuai dengan gambar 4.7 mempunyai nilai pH yang konstan pada angka 7 sejak hari ke-0 sampai dengan hari ke-28. Cappuccino (2001), menyatakan bahwa $K_2HPO_4$ yang ada pada komposisi pembuatan media menyerap kelebihan $H^+$ untuk membentuk garam asam lemah dan garam kalium dengan anion asam kuat ketika terjadi perubahan pH menjadi asam. Sedangkan $KH_2PO_4$ berperan ketika terjadi kenaikan pH, yaitu dengan membebaskan $H^+$

untuk membentuk air dengan kelebihan $OH^-$dan sisa sebagian garam asam lemah bergabung dengan kation alkali.

### 1.5. Hasil dan Analisa Kadar TPH (*Total Petroleum Hydrocarbons*)

Setelah memperoleh hasil TPH pada hari ke-0 sampai dengan hari ke-28, kemudian dihitung prosentase penurunan TPH dengan rumus TPH Reduction (%). Hasil prosentase penurunan TPH tiap reaktor (perlakuan dan kontrol), tercantum dalam lampiran 13. Hasil tersebut digunakan untuk menghitung TPH neto, yaitu selisih antara reduksi TPH reaktor perlakuan dan reduksi TPH reaktor kontrol dengan masing-masing media yang sama (tercantum dalam lampiran 14). Selanjutnya, hasil prosentase penurunan TPH neto diubah dalam grafik 4.8 yang ada di bawah ini :




**Gambar 4.8. Grafik Penurunan TPH Netto oleh Bakteri**

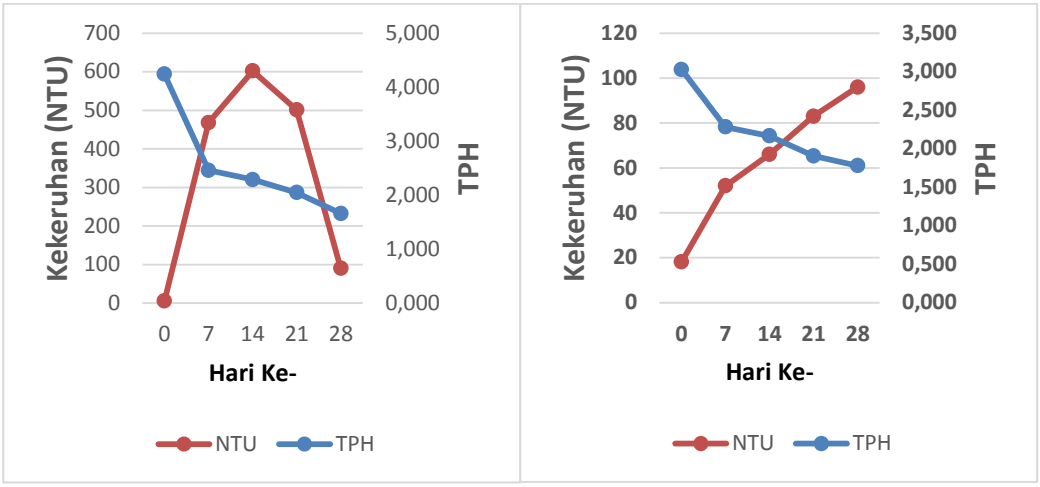
Berdasarkan tabel Hasil Prosentase Penurunan Hidrokarbon oleh Bakteri didapatkan penurunan TPH terbesar yaitu pada media HP yang ditambahkan bakteri isolat 3 (reaktor HP.3), hal tersebut dikarenakan isolat 3 tumbuh pada media dengan kapasitas buffer pH tinggi, sehingga dapat mempertahankan nilai pH tetap netral.

Berdasarkan hasil penelitian, bakteri yang tumbuh pada media HP mampu mendegradasi hidrokarbon dalam jumlah yang terbesar, yaitu 32,783 %. Hal tersebut dikarenakan, media HP mampu mempertahankan nilai pH tetap pada angka 7 (netral) hingga minggu hari ke-28. Isolat 1 mereduksi TPH paling banyak ketika tumbuh di media NB yaitu sebesar 28,093 %, selanjutnya pada media HP dan reduksi terkecil dalam media BHMS. Isolat 1 merupakan bakteri yang dapat tumbuh pada pH yang alkali, ditandai dengan reduksi terbesar yaitu pada media NB yang mencapai derajat keasaman hingga angka 9. Berbeda dengan isolat 2 dan isolat 3 yang mengalami penurunan TPH terbanyak pada media HP, selanjutnya media BHMS dan penurunan TPH terkecil pada media NB. Bakteri isolat 2 dan bakteri isolat 3 tidak mampu tumbuh pada lingkungan yang basa, terlihat dari prosentase penurunan TPH netto dengan hasil terkecil pada media Nutrient Broth, dan penurunan TPH netto terbesarnya ada pada media HP, yang mana pH media hingga hari ke-28 tetap pada angka 7.

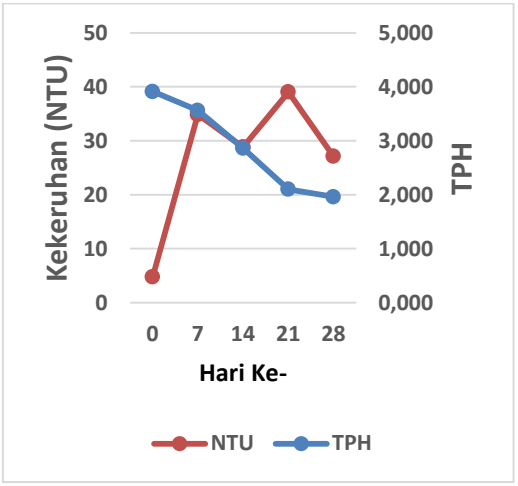
## 1.6. Pengaruh Kekeruhan Terhadap Penurunan TPH

### 4.6.1. Bakteri Isolat 1

Gambar 4.9 menunjukkan grafik hubungan kekeruhan dan TPH oleh bakteri isolat 1 dalam media NB, BHMS, dan HP. Apabila ketiga grafik dibandingkan, grafik (a.1), yaitu bakteri isolat 1 pada media NB, menunjukkan kekeruhan terbesar sesuai dengan hasil pengukuran turbiditasnya sebanyak 602 NTU pada hari ke-14. Hal tersebut menunjukkan bahwa bakteri isolat 1 mampu berkembang biak secara baik pada media *Nutrient Broth*. Banyaknya nutrisi yang dibutuhkan bakteri tersedia dalam media NB, didukung dengan adanya penambahan crude oil sebagai sumber karbon. Karbon merupakan unsur yang paling dasar bagi pembentukan sel mikroba dan merupakan elemen yang dibutuhkan dalam jumlah besar daripada elemen yang lain (Vidali, 2001).




(a.1) (b.1)




(c.1)

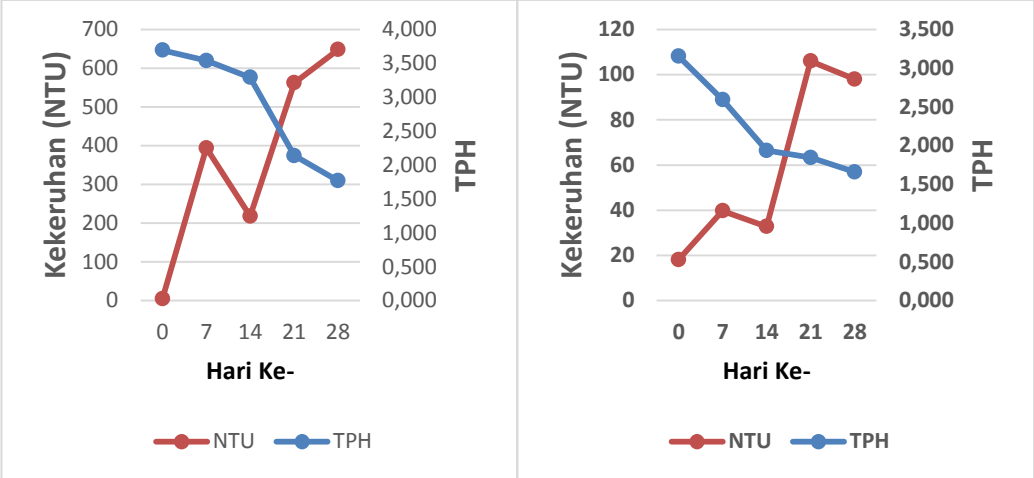
**Gambar 4.9. Grafik Hubungan Kekeruhan dan TPH oleh Isolat 1 (a.1)media NB, (b.1)media BHMS, (c.1)media HP**

Grafik (a.1) juga menunjukkan bahwa kekeruhan berpengaruh pada degradasi hidrokarbon, terbukti dengan degradasi TPH neto untuk bakteri isolat 1 di media NB sebesar 28,093 %. Das dan Chandran (2010) mengemukakan bahwa nutrisi merupakan bahan yang sangat penting untuk keberhasilan degradasi hidrokarbon. Karena dengan adanya nutrisi yang cukup mampu menunjang pertumbuhan bakteri pendegradasi senyawa hidrokarbon. Suja *et al* (2014) pada penelitiannya menyatakan, pertumbuhan yang terus menerus pada *plate counts* mengindikasikan bahwa konsorsium

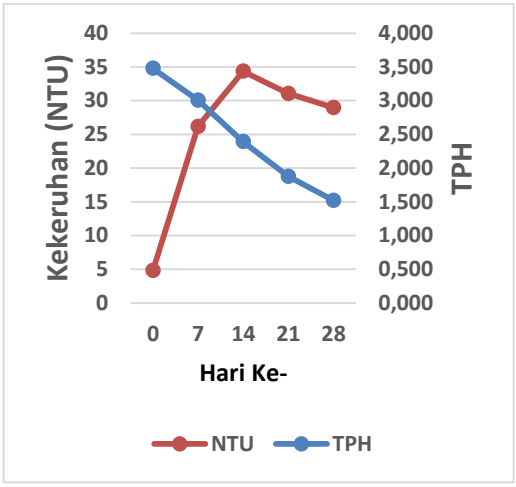
mikroba dan mikroba indigen mengalami perkembangbiakan dan mendegradasi *petroleum hydrocarbons*.

### 4.6.2. Bakteri Isolat 2

Gambar 4.10 di bawah ini menunjukkan hubungan kekeruhan dan TPH untuk bakteri isolat 2 pada media NB, media BHMS, dan media HP. Grafik (a.2) menunjukkan kekeruhan bakteri cenderung tinggi pada media NB, diikuti dengan penurunan TPH secara signifikan pada hari ke-21. Grafik (c.2) menunjukkan kekeruhan terbesarnya pada angka 34,34 NTU pada hari ke-14. Hasil penurunan TPH neto terbanyak dihasilkan oleh isolat 2 pada media HP, meskipun kekeruhan tidak besar apabila dibandingkan dengan media NB. Hal tersebut dikarenakan kekeruhan media NB yang ditumbuhi isolat 2 juga dipengaruhi oleh bakteri yang telah mati. Seperti pernyataan Waluyo (2004) bahwasannya kelemahan penggunaan metode turbidimetri yaitu susah membedakan bakteri yang masih hidup dan  dan bakteri yang telah mati.




(a.2) (b.2)



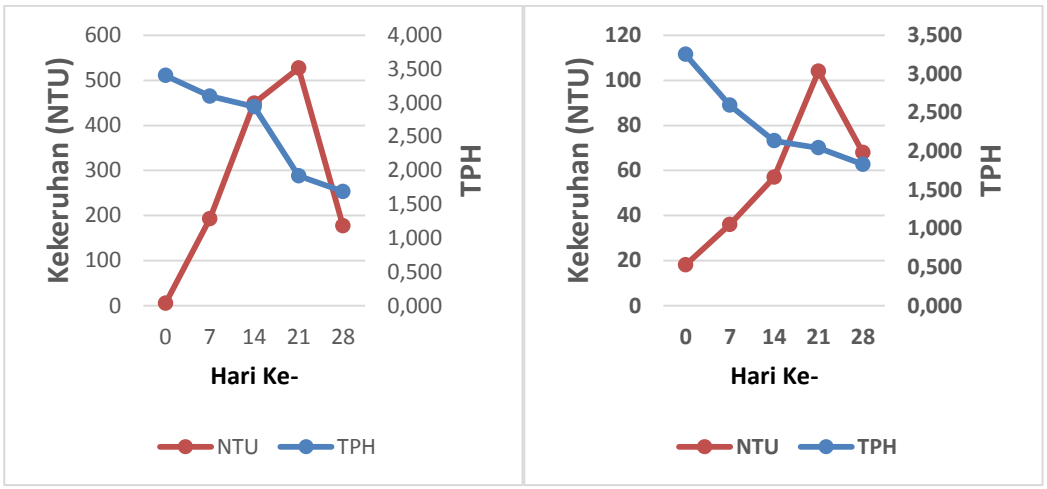

(c.2)

**Gambar 4.10. Grafik Hubungan Kekeruhan dan TPH oleh Isolat 2 (a.2)media NB, (b.2)media BHMS, (c.2)media HP**

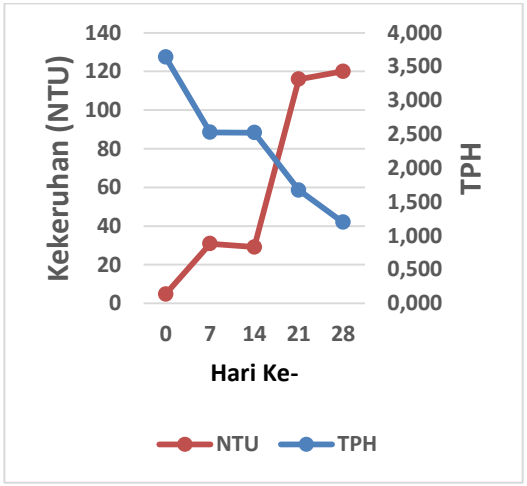
### 4.6.3. Bakteri Isolat 3

Bakteri isolat 3 merupakan bakteri yang mampu berkembang biak dan bertahan hidup dengan baik pada media NB, BHMS, dan HP seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.11 di bawah ini. Grafik (c.3) menyediakan hasil kekeruhan bakteri sebesar 120 NTU pada hari ke-28 mampu mempengaruhi degradasi hidrokarbon, dilihat dari penurunan TPH neto-nya sebesar 32,783 %. Hasil tersebut merupakan hasil degradasi terbesar untuk bakteri isolat 3 dibandingkan dengan kinerjanya di media NB dan BHMS yang masing-masing perolehan penurunan TPH neto-nya hanya sebesar 17,616 % dan 17,115 %.

Fenomena tersebut menunjukkan bahwa kekeruhan yang dihasilkan memang mempengaruhi degradasi TPH seperti pada grafik (c.3). Tetapi melihat grafik (a.3), kekeruhan yang diperoleh tidak selalu menghasilkan degradasi TPH yang besar pula. Hal tersebut dikarenakan kekeruhan menghambat suplai oksigen ke dalam media. Das dan Chandran (2010) menyatakan bahwa proses degradasi yang paling cepat dan lengkap mayoritas polutan organik yaitu degradasi hidrokarbon secara aerobik.




(a.3) (b.3)




(c.3)

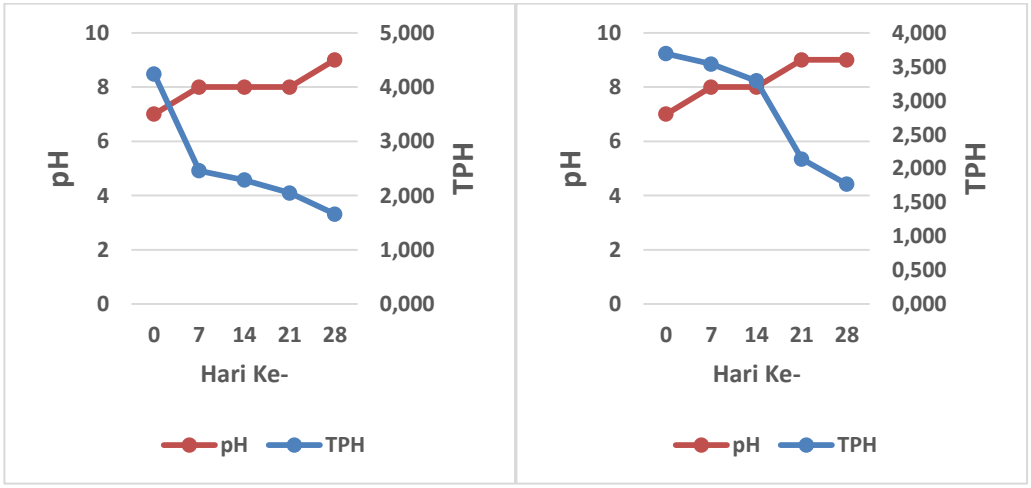
**Gambar 4.11. Grafik Hubungan Kekeruhan dan TPH oleh Isolat 3 (a.3)media NB, (b.3)media BHMS, (c.3)media HP**

## 1.7. Pengaruh Nilai pH Terhadap Degradasi TPH

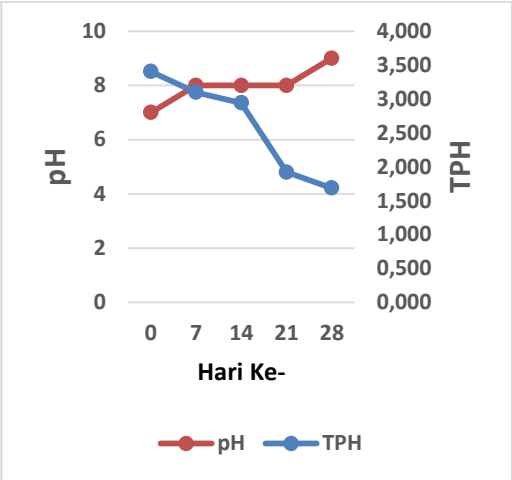
### 1.7.1. Media NB

Gambar 4.12 di bawah ini menunjukkan hubungan nilai ph media NB dan hasil degradasi TPH untuk isolat 1, 2, dan 3. Berdasarkan grafik, media NB mengalami kenaikan pH hingga mencapai angka 9. Kenaikan pH media *Nutrient Broth* disebabkan oleh produksi biosurfaktan yang disebabkan karena pertumbuhan bakteri yang besar pada media *Nutrient*

*Broth*. Carillo et al, 1996 menyatakan bahwa mikroorganisme dapat memproduksi biosurfaktan ketika ditumbuhkan pada substrat yang tidak larut (seperti: hidrokarbon, minyak, dan lilin) atau pada substrat yang larut (karbohidrat). Nilai pH yang cenderung naik ini, mempengaruhi bakteri dalam proses degradasi. Penurunan TPH neto untuk isolat 2 dan isolat 3 pada media NB ini cenderung rendah, yaitu masing-masing hanya sebesar 19,354 % dan 17,616 %. Hasil terendah dari penurunan TPH neto yang dimiliki oleh isolat 2 seperti yang terlihat dalam grafik (b.1) disebabkan karena kenaikan pH menjadi 9 lebih cepat dibandingkan dengan isolat 1 dan isolat 3. Seperti dalam pernyataan Dibble dan Bartha (1979) bahwa pH yang ekstrim mencegah sebagian besar proses biodegradasi mikroba.




(a.1) (b.1)

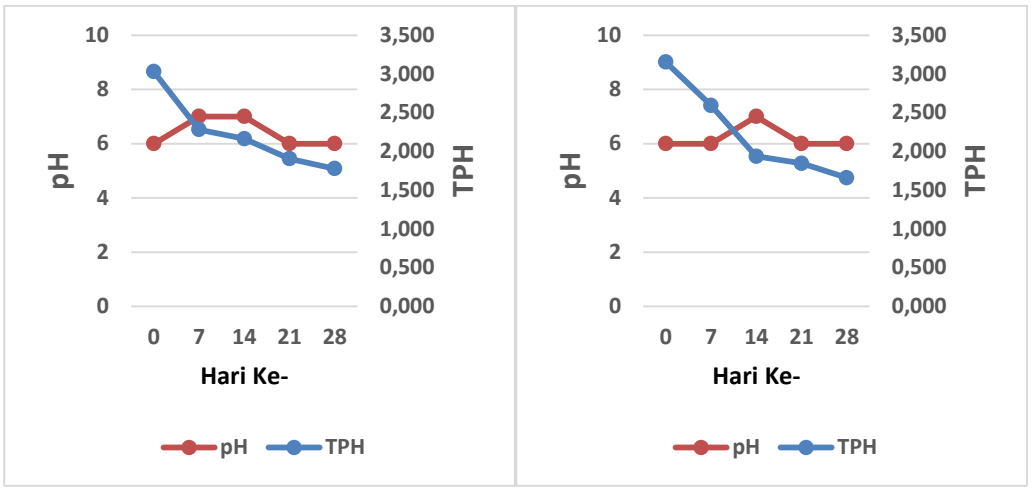



(c.1)

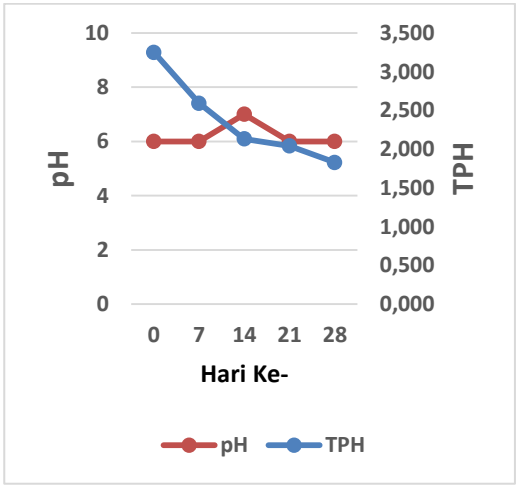
**Gambar 4.12. Grafik Hubungan Nilai pH dan TPH pada Media NB (a.1)isolat 1, (b.1)isolat 2, (c.1)isolat 3**

### 1.7.2. Media BHMS

Selama proses biodegradasi, berdasarkan gambar 4.13 di bawah ini, nilai pH media BHMS cenderung mengalami kenaikan dari 6 menjadi 7, kemudian pada 2 minggu terakhir, nilai pH kembali dalam keadaan awal (6). Untuk grafik (a.2), kenaikan pH mempengaruhi proses degradasi, terlihat dari penurunan TPH dengan selisih sangat rendah antara hari ke-7 dan ke-14 yang sedang dalam keadaan nilai pH di angka 7. Penelitian Juliani dan Rahman (2011) memberikan hasil bahwa nilai pH sangat mempengaruhi kinerja bakteri dalam mendegradasi hidrokarbon, dengan hasil degradasi TPH sebesar 39 % dengan kondisi akhir pH bervariasi antara 6 dan 5. Nilai pH menurun dari kondisi awal sebesar 7.




(a.2) (b.2)




(c.2)

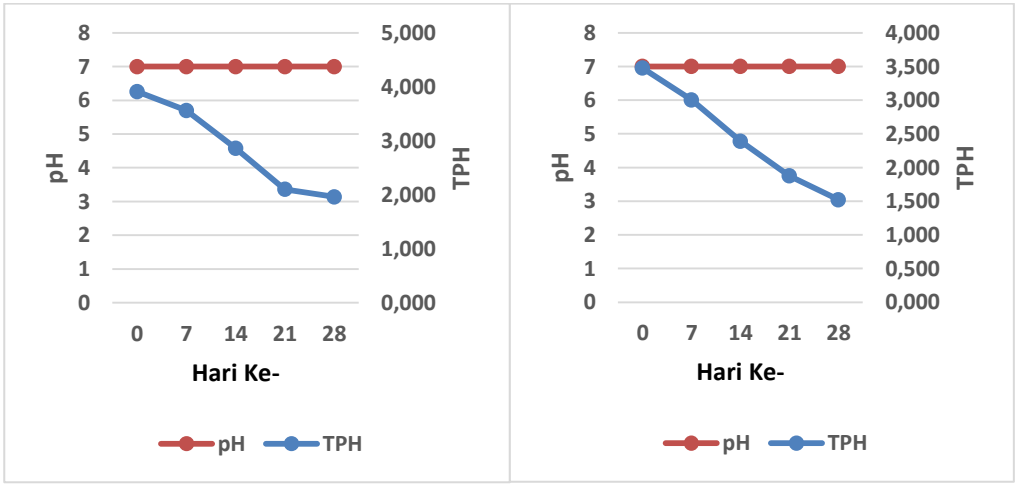
**Gambar 4.13. Grafik Hubungan Nilai pH dan TPH pada Media BHMS (a.2)isolat 1, (b.2)isolat 2, (c.2)isolat 3**

### 1.7.3. Media HP (*High Phosphate*)

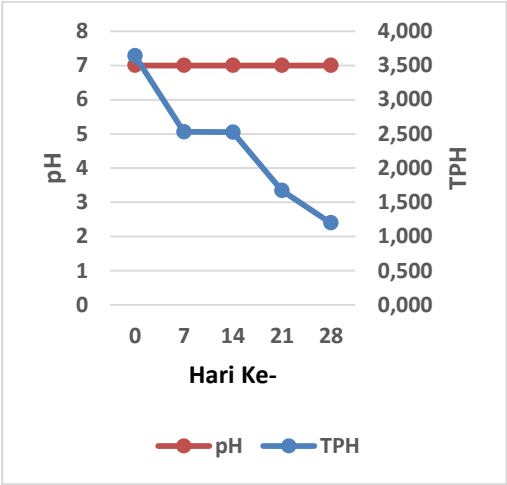
Gambar 4.14 di bawah ini menunjukkan grafik hubungan nilai pH dan TPH bakteri isolate 1, 2, dan 3 pada media HP. Apabila ketiga grafik dibandingkan, nilai pH memang cenderung mempengaruhi banyaknya TPH yang terdegradasi. Nilai pH media HP yang tetap pada angka 7

memberikan pengaruh yang baik kepada bakteri dalam mendegradasi hidrokarbon, hal ini dibuktikan dengan grafik (c.3) yang hasil penurunan TPH-nya mencapai 32,783%.

Kondisi lingkungan tempat hidup bakteri mempengaruhi pertumbuhan dan kemampuan bakteri dalam mendegradasi minyak. Bakteri dapat mendegradasi minyak secara optimal pada nilai pH 6,5 – 8,0 (Vidali, 2001). Hal tersebut dikarenakan nilai pH yang ekstrim mencegah sebagian besar proses biodegradasi mikroba (Dibble & Bartha, 1979). Nilai pH yang ekstrim mengganggu aktivitas bakteri dalam memproduksi enzim pendegradasi hidrokarbon. Sistem enzim diperlukan untuk memperkenalkan oksigen dalam substrat untuk memulai biodegradasi.




(a.3) (b.3)




(c.3)

**Gambar 4.14. Grafik Hubungan Nilai pH dan TPH pada Media HP (a.3)isolat 1, (b.3)isolat 2, (c.3)isolat 3**

# BAB V

# KESIMPULAN DAN SARAN

## 1.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian mengenai biodegradasi hidrokarbon minyak bumi oleh isolat bakteri dari penambangan minyak bumi milik warga lokal Desa Talang Sungaiangit, Kecamatan Babat Toman, Kabupaten Musi Banyuasin, Provinsi Sumatera Selatan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Diantara ketiga isolat bakteri, yang memberikan hasil degradasi hidrokarbon terbesar yaitu isolat 3 dalam media HP (*High Phosphate*) dengan penurunan TPH nettonya sebesar 32,783 %.
2. Jenis media yang digunakan dalam berpengaruh terhadap kemampuan bakteri dalam proses degradasi senyawa hidrokarbon, dalam hal ini biodegradasi terbesar diperoleh dalam media HP dengan pH 7 dari hari ke-0 sampai dengan hari ke-28.

## 1.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian mengenai biodegradasi hidrokarbon minyak bumi oleh isolat bakteri dari penambangan minyak bumi milik warga lokal Desa Talang Sungaiangit, Kecamatan Babat Toman, Kabupaten Musi Banyuasin, Provinsi Sumatera Selatan, masih terdapat beberapa kekurangan. Sehingga saran untuk penelitian selanjutnya adalah sebagai berikut:

1. Proses bioremediasi dilakukan dengan menambahkan konsorsium bakteri, tidak hanya 1 jenis bakteri saja. Sehingga dapat diketahui pengaruh penurunan TPH hanya dengan penambahan 1 jenis bakteri dan penurunan TPH dengan penambahan beberapa jenis bakteri (konsorsium). Apakah dengan penambahan jenis bakteri, penurunan TPH menjadi lebih besar.

2. Pengukuran TPH menggunakan metode spektrofotometri GC-MS (gas kromatografi) untuk mengetahui secara detail rantai hidrokarbon apa saja yang telah terdegradasi.

## DAFTAR PUSTAKA


Afifi A., Motamedi H., Alizadeh B., Leilavi H. 2015. **Isolation and Identification of Oil Degrading Bacteria from Oil Sludge in Abadan Oil Refinery**. *Environmental an Experimental Biology*. ISSN 2255-9582.13:13 -18.

Aliyanta B., Sumarlin L.O., Mujab A.S. 2011. **Penggunaan Biokompos dalam Bioremediasi Lahan Tercemar Limbah Minyak Bumi**. ISSN : 1978 - 8193. Vol. 2 No.3 (430-442)

Atlas R.M. 1991. **Microbial Hydrocarbon Degradation-Bioremediation of Oil Spills**. J Chem Technol Biotechnol; 52: 149-56.

Ayotamuno M.J, Okparanma R.N, Nweneka E.K, Ogaji S.O.T, Probert S.D. 2007. **Bio-remediation Of A Sludge Containing Hydrocarbons**. *Applied Energy*, Volume 84, Issue 9. 936-943.

Bushnell L.D., Haas H.F. 1940. **The Utilization of Certain Hydrocarbons by Microorganism**.

Cappuccino J.G., Sherman N. 2001. **Microbiology A Laboratory Manual**. Library of Congress Cataloging-in-Publication Data. United States.

Carillo P.G, Mardaraz C, Pitta-Alvarez S.I, Giulietti A. M. 1996. **Isolation and Selection of Biosurfactant-Producing Bacteria**. World Journal of Microbiology & Biotechnology. Vol 12. Issue 1. 82-84.

Chaerun S.K, Tazaki K., Asada R., Kogure K. 2004. **Bioremediation of Coastal Areas 5 Years After the Nakhodka Oil Spill in The Sea of Japan: Isolation and Characterization of Hydrocarbon- Degrading Bacteria**. Environment International 30, 911-922.

Ciccyliona D.Y, Nawfa R. 2012. **Pengaruh pH Terhadap Produksi Biosurfaktan oleh Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Lokal**. Jurnal Sains dan Seni Pomits. Vol.1. No.1. 1-6

Das N., Chandran P. 2011. **Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbon Contaminants: An Overview**. *Biotechnology Research International*. 13.

Dibble J.T, Bartha R. 1979. **Effect of Environmental Parameters on The Biodegradation of Oil Sludge**. Applied and Environmental Microbiology. Vol. 37. No. 4. 729-739

Douglas, G.S., Prince, R.C., Butler, E.L., and Steinhauer, W.G. 1994 **The use of internal chemical indicators in petroleum and refined products to evaluate the extent of biodegradation**. In R.E. Hinchee, B.C. Alleman, R.E. Hoeppel, and R.N. Miller (eds.), Hydrocarbon Bioremediation, Lewis Publishers, Inc., Boca Raton, FL. pp. 219-236.

Fatimah. 2007. **Uji Produksi Biosurfaktan oleh Pseudomonas sp. Pada Substrat yang Berbeda**. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Airlangga Surabaya. Berk. Penel. Hayati: 12 (181-185), 2007.

Hafiluddin. 2011. **Bioremediasi Tanah Tercemar Minyak dengan Teknik Bioaugmentasi dan Biostimulasi**. Embryo Vol 8 No 1. ISSN 0216-0188

Hamdani M.A, AL Ghazi A.A. 2015. **Isolation and Identification of Hydrocarbon Degrading Bacteria From Oil Sludge in Oil Producing Area of Basrah, Iraq**. *International Journal of Engineering and Technical Research (IJETR)*. ISSN: 2321-0869, Volume 3, Isssue 2 (22-27).

Handrianto P., Rahayu Y.S, Yuliani. 2012. **Teknologi Bioremediasi dalam Mengatasi Tanah Tercemar Hidrokarbon**. *Prosiding Seminar Nasional Kimia Unesa*. ISBN : 978-979-028-550-7.

Harti A.S. 2015. **Mikrobiologi Kesehatan: Peran Mikrobiologi dalam Bidang Kesehatan**. CV Andi Offset. Yogyakarta.

Juliani A., Rahman F. 2011. **Bioremediasi Lumpur Minyak (Oil Sludge) dengan Penambahan Kompos sebagai Bulking Agent dan Sumber Nutrien Tambahan**. Jurnal Sains dan Teknologi Lingkungan. ISSN: 2085-1227. Volume 3 No.1 hlm 001-018.

Juliani A., Lathifah A.N, Nurdin W.A. 2016. **Pengaruh Penambahan Kosubstrat Pada Biodegradasi Crude Oil**. Jurnal Sains dan Teknologi Lingkungan. Vol. 8. No. 2. 112-120

Kardena E. 1995. **Characterization of A Three Membered Microbial Community Growing in 1,6-Dichlorohexane**. Thesis on University of Wales at Cardiff, United Kingdom.

Kepmen LH Nomor 128 Tahun 2003 Tentang Tata Cara dan Persyaratan Teknis Pengolahan Limbah Minyak Bumi dan Tanah Terkontaminasi Oleh Minyak Bumi Secara Biologis.

Koch A.K, Kapelli O., Fiechter A., Reiser J. 1991. **Hydrocarbon Assimilation and Biosurfactant Production in Pseudomonas aeruginosa Mutants**. Jurnal of Bacteriology Vol 173, No. 13. p 4212-4219.

Leahy J.G, Colwell R.R. 1990. **Microbial Degradation of Hydrocarbons in the Environment**. *Microbiological Reviews*. Vol. 54, No. 3. 305-315

Marshall R.T. 1993. **Standard Methods for the Microbiological Examination of Dairy Products, 1 6th ed**. American Public Health Association. Washington D.C.

Nugroho A. 2009. **Biodegradasi Sludge Minyak Bumi dalam Skala Mikrokosmos**. Makara Teknologi. 10 (2): 82-89.

Nugroho A., 2006. **Biodegradasi Sludge Minyak Bumi Dalam Skala Mikrokosmos: Simulasi Sederhana Sebagai Kajian Awal Bioremediasi Land Treatment** . Makara, Teknologi, Vol 10, No.2, November 2006:82-89.

Ouyang W., Liu H., Murygina V., Yu Y., Xiu Z., Kalyuzhnyi S. 2005.**Comparison of Bioaugmentation and Composting for Remediation of Oily Sludge**. *Process Biochemistry* 40. 3763-3768

Pelczar M.J. 1986. **Dasar-Dasar Mikrobiologi**. Universitas Indonesia. Jakarta.

Prayitno J., Mahmudah A., Lisyastuti E. 2010. **Degradasi Minyak Mentah dan Solar oleh Konsorsium Mikroba Asal Pertambangan Minyak Cepu**. Vol 4 No.2 (81-88).

Prayitno J., Mulyasari A., Lisyastuti E. 2012. **Pengaruh Konsorsium dan Dosis Mikroba dalam Mendegradasi Senyawa Hidrokarbon di Tanah Tercemar Minyak Bojonegoro**. Edisi Khusus "Hari Lingkungan Hidup". ISSN 1441-318X. Hal 11-20.

Speight J.G. 2014. **The Chemistry and Technology of Petroleum, Fifth Edition**. CRC Press. United State.

Spellman F.R. 2014. **Handbook of Water and Wastewater Treatment Plant Operations, Third Edition**. CRC Press. United State.

Sudrajat D., Mulyana N., Retno T. 2015. **Isolasi dan Aplikasi Mikroba Indigen Pendegradasi Hidrokarbon dari Tanah Tercemar Minyak Bumi**. Penelitian Dasar Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Nuklir. ISSN 0216-3128.

Suja F., Rahim F., Taha R.M, Hambali N., Razali R.M, Khalid A., Hamzah A. 2014. **Effect of Local Microbial Bioaugmentation and Biostimulation on The Bioremediation of Total Petroleum Hydrocarbons (TPH) in Crude Oil Contaminated Soil Based on Laboratory and Field**

**Observations**. International Biodeterioration and Biodegradation 90, 115-122.

Vidali M. 2001. **Bioremediation. An Overview**. *Pure and Applied Chemistry*. Vol. 73. No.7. 1163-1172.

Waluyo L. 2004. **Mikrobiologi Umum**. UMM Press. Penerbitan Universitas Muhammadiyah Malang. Malang

Wang S.Y, Kuo Y.C, Hong A., Chang Y.M, Kao C.M. 2016. **Bioremediation of Diesel and Lubricant Oil-Contaminated Soils using Enhanced Landfarming System**. Chemosphere 164 (2016) 558-567.

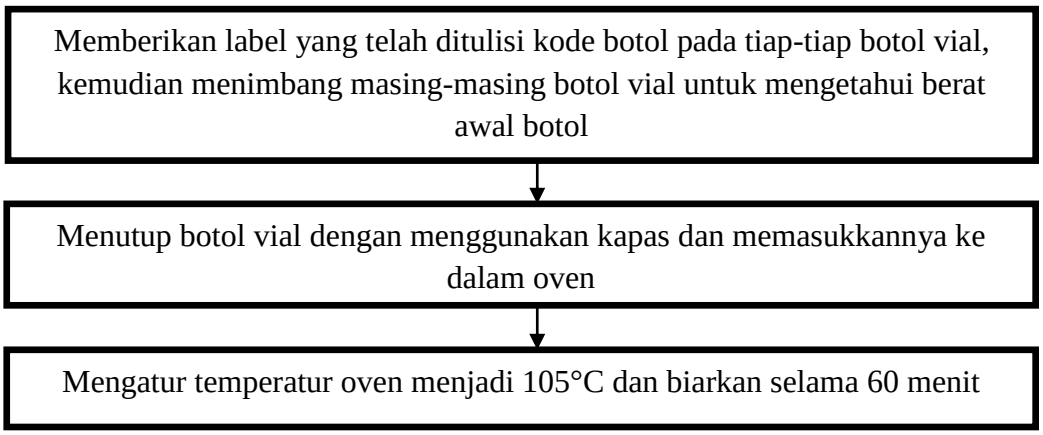
Wibowo M.S. 2012. **Pertumbuhan dan Kontrol Bakteri**. Jurnal Pertumbuhan Bakteri. C070205. pdf

# LAMPIRAN

**Lampiran 1. Langkah Kerja Persiapan Isolat (dalam *Laminar Air Flow*)**



**Lampiran 2. Langkah Kerja Persiapan Alat**



**Lampiran 3. Langkah Kerja Persiapan media**

**A. Media *Nutrient Broth***

Menimbang *Nutrient Broth* dan menuangkan ke dalam labu erlenmeyer yang telah berisi aquades

Mengaduk bahan menggunakan *magnetic stirrer* hingga semua larut

Menutup labu erlenmeyer dengan kapas yang telah dibungkus kain kassa

Memasukkan media *Nutrient Broth* ke dalam autoklaf dan sterilkan selama 15 menit dalam suhu 121°C

Setelah dingin, media *Nutrient Broth* siap digunakan

**B. Media BHMS (*Bushnell Haas Mineral Salt*)**

Menimbang seluruh bahan-bahan yang digunakan sebagai komposisi media BHMS dan menuangkan ke dalam labu erlenmeyer berisi aquades

↓

Mengaduk bahan menggunakan *magnetic stirrer* hingga semua larut

↓

Menutup labu erlenmeyer dengan kapas yang telah dibungkus kain kassa

↓

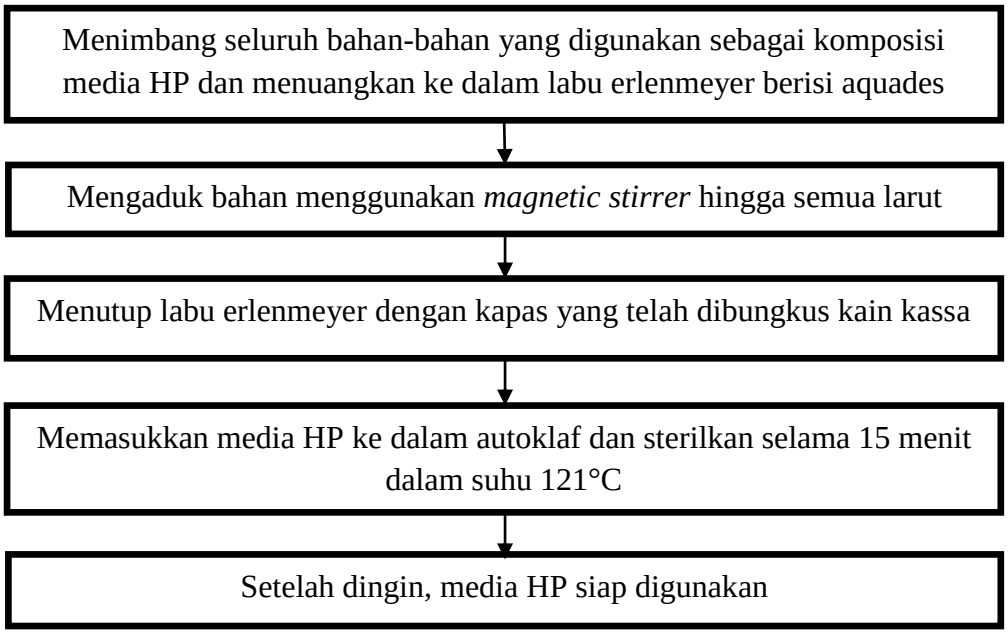
Memasukkan media BHMS ke dalam autoklaf dan sterilkan selama 15 menit dalam suhu 121°C

↓

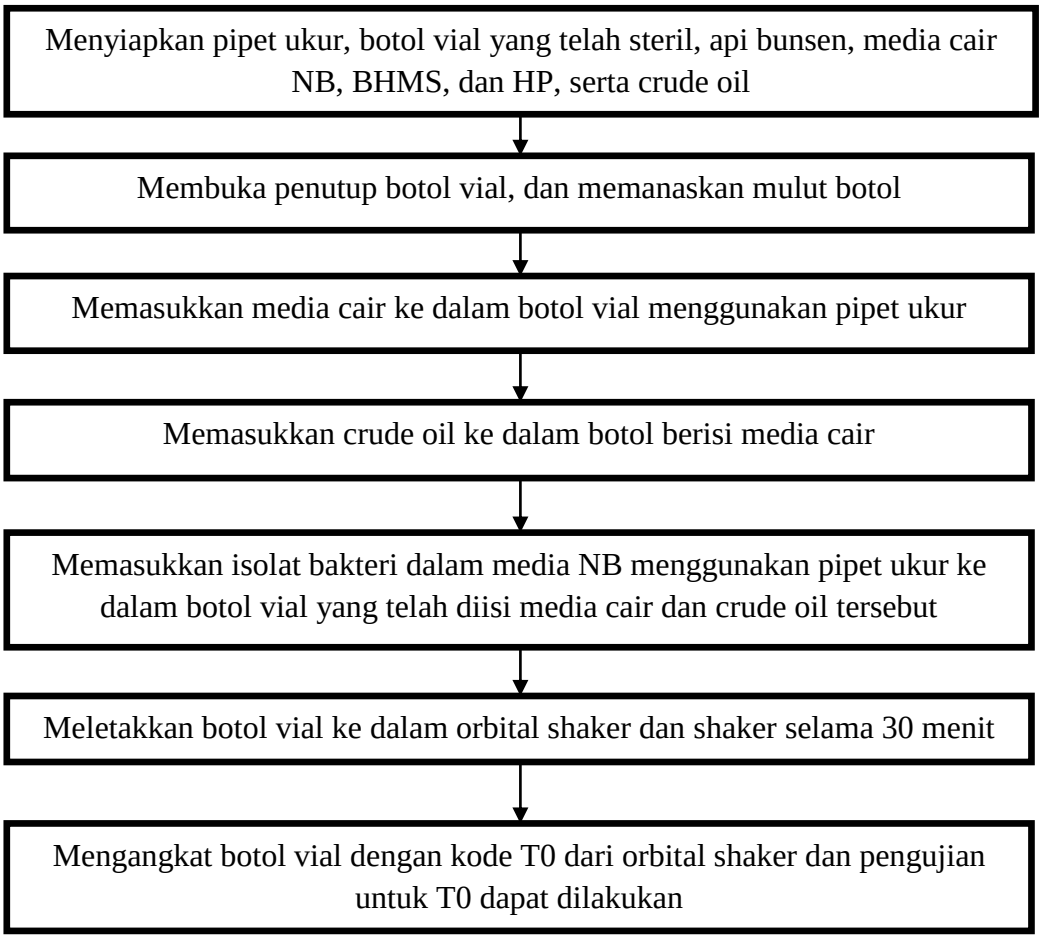
Setelah dingin, media BHMS siap digunakan

**Lampiran 4. Langkah Kerja Persiapan Media**

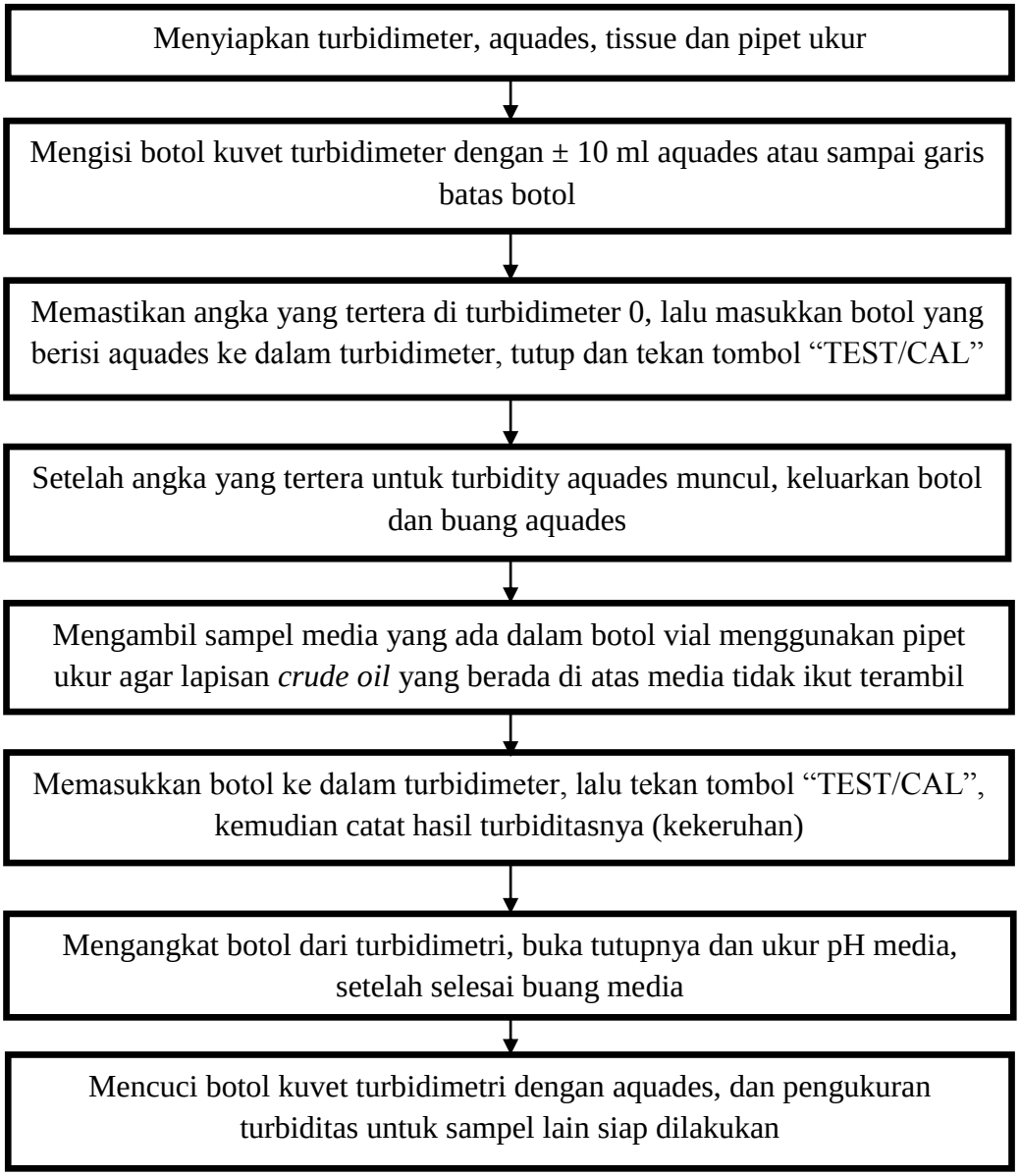
**C. Media HP (*High Phosphate*)**



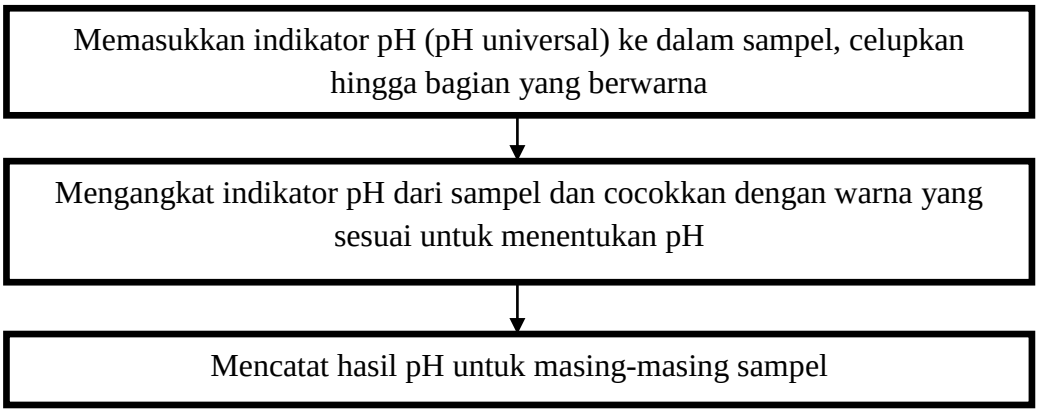
**Lampiran 5. Langkah Kerja Pembuatan Reaktor (dalam *Laminar Air Flow*)**



**Lampiran 6. Langkah Kerja Pengukuran Kekeruhan**



**Lampiran 7. Langkah Kerja Pengukuran pH**



**Lampiran 8. Langkah Kerja Pengukuran TPH**



**Lampiran 9. Contoh Perhitungan Konsentrasi Penurunan TPH**

Rumus :

$$\textbf{Konsentrasi penurunan TPH (\%)} = \frac{\mathbf{b-a1}}{\mathbf{grsampel}}\mathbf{x\ 100}$$

Keterangan :

a1 = berat botol vial awal sebelum dioven (gram)

b = berat botol vial berisi supernatant setelah dioven (gram)

Contoh perhitungan : (Reaktor NB.1 hari ke-0)

Diketahui : Berat botol awal (a1) = 99,3342 gram

Berat botol akhir (b) = 100,66 gram

Berat crude oil = 1,5 ml = 1,395 gram

Berat media NB = 28,5 ml = 28,8705 gram

Berat inokulum NB 1 = 1 ml = 1,007 gram

Penyelesaian :

$$\textbf{Konsentrasi penurunan TPH (\%)} = \frac{100{,}66-99{,}3342}{1{,}395+28{,}8705+1{,}007}\text{x } 100$$

$$= \frac{1{,}326}{31{,}2725}\text{x } 100$$

$$= \mathbf{4{,}24015\ \%}$$

**Lampiran 10. Contoh Perhitungan Penurunan TPH**

Rumus :

$$\textbf{Penurunan TPH (\%)} = \frac{TPH_{day0} - TPH_{day28}}{TPH_{day0}} \textbf{x 100}$$

Keterangan :

TPH day0 = kadar TPH pada hari ke-0

TPH day28 = kadar TPH pada hari ke-28

Contoh perhitungan : (Reaktor NB.1)

Diketahui : TPH day-0 = 4,240 %

TPH day-28 = 1,658 %

Penyelesaian :

$$\textbf{Penurunan TPH (\%)} = \frac{4{,}240 - 1{,}658}{4{,}240} \text{x } 100$$

$$= \frac{2{,}582}{4{,}240} \text{x } 100$$

$$= \textbf{60,890 \%}$$

**Lampiran 11. Contoh Perhitungan TPH Netto**

Rumus :

$$\boldsymbol{TPHnett = TPH(p) - TPH(k)}$$

Keterangan :

TPHnett = penurunan TPH netto (%)

TPH(p) = penurunan TPH reaktor perlakuan (%)

TPH(k) = penurunan TPH reaktor control (%)

Contoh perhitungan : (Reaktor NB.1)

Diketahui : TPH(p) = 60,890 %

TPH(k) = 32,797 %

Penyelesaian :

$$\boldsymbol{TPHnett = 60,890 - 32,797}$$
$$\boldsymbol{= 28,093}\ \%$$

**Lampiran 12. Hasil Pengukuran Konsentrasi TPH**

| No | Kode Reaktor | Konsentrasi TPH (%) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Hari Ke - 0 | Hari Ke - 7 | Hari Ke - 14 | Hari Ke - 21 | Hari Ke - 28 |
| 1 | NB.1 | 4,240 | 2,459 | 2,287 | 2,049 | 1,658 |
| 2 | NB.2 | 3,694 | 3,539 | 3,292 | 2,138 | 1,768 |
| 3 | NB.3 | 3,405 | 3,098 | 2,943 | 1,921 | 1,688 |
| 4 | BHMS.1 | 3,028 | 2,282 | 2,164 | 1,906 | 1,778 |
| 5 | BHMS.2 | 3,153 | 2,594 | 1,937 | 1,846 | 1,661 |
| 6 | BHMS.3 | 3,251 | 2,594 | 2,133 | 2,042 | 1,829 |
| 7 | HP.1 | 3,912 | 3,563 | 2,863 | 2,101 | 1,962 |
| 8 | HP.2 | 3,477 | 3,005 | 2,392 | 1,876 | 1,522 |
| 9 | HP.3 | 3,641 | 2,529 | 2,524 | 1,674 | 1,198 |
| 10 | K.NB | 3,943 | | | | 2,650 |
| 11 | K.BHMS | 3,251 | | | | 2,386 |
| 12 | K.HP | 3,245 | | | | 2,132 |

**Lampiran 13. Hasil Perhitungan Reduksi TPH**

| No | Kode Reaktor | Konsentrasi TPH (%) | | TPH Reduction (%) |
|---|---|---|---|---|
| | | Hari Ke - 0 | Hari Ke - 28 | |
| 1 | NB.1 | 4,240 | 1,658 | 60,890 |
| 2 | NB.2 | 3,694 | 1,768 | 52,151 |
| 3 | NB.3 | 3,405 | 1,688 | 50,413 |
| 4 | BHMS.1 | 3,028 | 1,778 | 41,299 |
| 5 | BHMS.2 | 3,153 | 1,661 | 47,328 |
| 6 | BHMS.3 | 3,251 | 1,829 | 43,741 |
| 7 | HP.1 | 3,912 | 1,962 | 49,841 |
| 8 | HP.2 | 3,477 | 1,522 | 56,239 |
| 9 | HP.3 | 3,641 | 1,198 | 67,094 |
| 10 | K.NB | 3,943 | 2,650 | 32,797 |
| 11 | K.BHMS | 3,251 | 2,386 | 26,626 |
| 12 | K.HP | 3,245 | 2,132 | 34,311 |

**Lampiran 14. Hasil Perhitungan Penurunan TPH Neto**

| No | Kode reaktor | Penurunan TPH (%) | Penurunan TPH Neto (%) |
|---|---|---|---|
| 1 | **NB.1** | **60,890** | 28,093 |
| 2 | K.NB | 32,797 | |
| 3 | **NB.2** | **52,151** | 19,354 |
| 4 | K.NB | 32,797 | |
| 5 | **NB.3** | **50,413** | 17,616 |
| 6 | K.NB | 32,797 | |
| 7 | **BHMS.1** | **41,299** | 14,673 |
| 8 | K.BHMS | 26,626 | |
| 9 | **BHMS.2** | **47,328** | 20,702 |
| 10 | K.BHMS | 26,626 | |
| 11 | **BHMS.3** | **43,741** | 17,115 |
| 12 | K.BHMS | 26,626 | |
| 13 | **HP.1** | **49,841** | 15,530 |
| 14 | K.HP | 34,311 | |
| 15 | **HP.2** | **56,239** | 21,928 |
| 16 | K.HP | 34,311 | |
| 17 | **HP.3** | **67,094** | 32,783 |
| 18 | K.HP | 34,311 | |