ISOLASI DAN SELEKSI BAKTERI INDIGEN PENDEGRADASI HIDROKARBON MINYAK BUMI PADA TANAH DI LOKASI TAMBANG MINYAK WONOCOLO, BOJONEGORO

SKRIPSI

Disusun Oleh:
ELI NUR KHAFIDLOH
NIM: H71216025

PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL
SURABAYA
2020

PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Eli Nur Khafidloh

NIM : H71216025

Program Studi : Biologi

Angkatan : 2016

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul: "ISOLASI DAN SELEKSI BAKTERI INDIGEN PENDEGRADASI HIDROKARBON MINYAK BUMI PADA TANAH DI LOKASI TAMBANG MINYAK WONOCOLO, BOJONEGORO". Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan tindakan plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian pernyataan keaslian ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Surabaya, 6 Agustus 2020

Yang menyatakan,

(ELI NUR KHAFIDLOH)

NIM. H7121625

LEMBAR PERSETUJUAN PEMBIMBING

Skripsi oleh:

NAMA : ELI NUR KHAFIDLOH

NIM : H71216025

JUDUL : ISOLASI DAN SELEKSI BAKTERI INDIGEN PENDEGRADASI HIDROKARBON MINYAK BUMI PADA TANAH DI LOKASI TAMBANG MINYAK WONOCOLO, BOJONEGORO

Telah diperiksa dan disetujui untuk diujikan.

Surabaya, 28 Juli 2020

Dosen Pembimbing I	Dosen Pembimbing II
Nirmala Fitria Firdausi, M.Si	Eva Agustina, M.Si
NIP. 198506252011012010	NIP. 198908302014032008

PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI

Skripsi Eli Nur Khafidloh ini telah dipertahankan
di depan tim penguji skripsi
di Surabaya, 6 Agustus 2020.

Mengesahkan,
Dewan Penguji

Penguji I

Nirmala Fitria Firdausi, M.Si
NIP. 198506252011012010

Penguji II

Eva Agustina, M.Si
NIP. 198908302014032008

Penguji III

Dr. Moch Irfan Hadi, M.KL
NIP. 198604242014031003

Penguji IV

Dedy Suprayogi, M.KL
NIP. 198512112014031002

Mengetahui,
Plt. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Sunan Ampel Surabaya

Dr. Hj.Evi Fatimatur Rusydiyah, M.Ag.
NIP. 197312272005012003

KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL SURABAYA
PERPUSTAKAAN
Jl. Jend. A. Yani 117 Surabaya 60237 Telp. 031-8431972 Fax.031-8413300
E-Mail: perpus@uinsby.ac.id

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika UIN Sunan Ampel Surabaya, yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : ELI NUR KHAFIDLOH
NIM : H71216025
Fakultas/Jurusan : SAINTEK/BIOLOGI
E-mail address : elinurkhafidloh03@gmail.com

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif atas karya ilmiah :

■ Sekripsi ☐ Tesis ☐ Desertasi ☐ Lain-lain (.....)

yang berjudul :

ISOLASI DAN SELEKSI BAKTERI INDIGEN PENDEGRADASI HIDROKARBON MINYAK BUMI PADA TANAH DI LOKASI TAMBANG MINYAK WONOCOLO, BOJONEGORO

beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan Hak Bebas Royalti Non-Ekslusif ini Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya berhak menyimpan, mengalih-media/format-kan, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data (database), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasikannya di Internet atau media lain secara ***fulltext*** untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan atau penerbit yang bersangkutan.

Saya bersedia untuk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan UIN Sunan Ampel Surabaya, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah saya ini.

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 18 Agustus 2020

Penulis

(Eli Nur Khafidloh)

ABSTRAK

ISOLASI DAN SELEKSI BAKTERI INDIGEN PENDEGRADASI HIDROKARBON MINYAK BUMI PADA TANAH DI LOKASI TAMBANG MINYAK WONOCOLO, BOJONEGORO

Pertambangan minyak bumi Wonocolo merupakan salah satu pertambangan minyak bumi tradisional yang dikelola rakyat di Kabupaten Bojonegoro. Desa Wonocolo terletak di Kecamatan Kedewan, Kabupaten Bojonegoro. Terdapat sejumlah 44 sumur dengan kapasitas produksi 25.771 L/hari pada lokasi tersebut. Adanya aktivitas pengeboran mengakibatkan tanah di lokasi pertambangan memiliki kadar hidrokarbon yang tinggi dan melebihi kadar hidrokarbon baku mutu (1%), yaitu 4,35% hingga 12,31%, sehingga menimbulkan kerusakan ekosistem di lokasi tersebut dan perlu dilakukan pemulihan lahan dengan bioremediasi salah satunya dengan bantuan bakteri indigen pendegradasi hidrokarbon. Tujuan penelitian ini yaitu mendapatkan isolat bakteri indigen pendegradasi hidrokarbon dari lokasi pertambangan minyak Wonocolo dan mengetahui karakteristik isolat bakteri tersebut. Dilakukan tahap seleksi dengan media Zobell yang telah diberikan residu minyak bumi untuk mendapatkan isolat bakteri yang mampu mendegradasi hidrokarbon. Identifikasi isolat bakteri dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat dua isolat bakteri (kode isolat 1.6 dan 2.3) yang mampu bertahan hidup pada media selektif Zobell. Isolat 1.6 didapatkan dari sampel 1 (area pengangkutan), sedangkan isolat 2.3 didapatkan dari sampel 2 (area pengeboran / sumur). Hasil pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis isolat 1.6 yaitu memiliki koloni berwarna putih kekuningan, memiliki bentuk tidak beraturan (*irregular*), tepian koloninya berombak/berlekuk (*lobate*), memiliki permukaan koloni yang timbul datar (*raised*), bentuk sel *monobacil*, serta tergolong bakteri gram negatif. Sedangkan Isolat 2.3 memiliki koloni berwarna putih, memiliki bentuk koloni bulat (*regular*), tepian koloni berombak/berlekuk (*lobate*), memiliki permukaan timbul datar, bentuk sel *diplococcus*, serta tergolong bakteri gram negatif. Berdasarkan ciri-ciri kedua isolat tersebut, maka kedua isolat tersebut cenderung memiliki kemiripan dengan ciri-ciri makroskopis dan mikroskopis *Genus Bacillus*.

Kata kunci: Isolasi, Seleksi, Minyak bumi, Bakteri pendegradasi hidrokarbon

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

ABSTRACT

ISOLATION AND SELECTION OF INDIGENE BACTERIA DEGRADATION OF EARTH OIL HYDROCARBONS IN SOIL IN WONOCOLO OIL MINE, BOJONEGORO

Wonocolo petroleum mining is one of the traditionally managed petroleum mining in Bojonegoro Regency. Wonocolo Village is located in Kedewan District, Bojonegoro Regency. There are 44 wells with a production capacity of 25,771 L / day at this location. The presence of drilling activities results in the soil at the mining site having high hydrocarbon levels and exceeding the standard quality hydrocarbon levels (1%), which is 4.35% to 12.31%, causing damage to the ecosystem at that location and the need for land restoration with incorrect bioremediation. only with the help of hydrocarbon-degrading indigenic bacteria. The purpose of this study was to obtain the hydrocarbon degrading bacteria bacteria isolates from the Wonocolo oil mining location and to determine the characteristics of the bacterial isolates. The selection stage was carried out with Zobell media which had been given petroleum residues to obtain bacterial isolates that were able to degrade hydrocarbons. Identification of bacterial isolates was done macroscopically and microscopically. The results showed that there were two bacterial isolates (isolate codes 1.6 and 2.3) that were able to survive on Zobell selective media. Isolate 1.6 was obtained from sample 1 (transport area), while isolate 2.3 was obtained from sample 2 (drilling / well area). The results of macroscopic and microscopic observations of isolates 1.6 are yellowish-white colonies, irregular shape, irregularly shaped edges of lobes, lobed surfaces, raised, monobacil cell forms, and classified as gram bacteria negative. Whereas Isolate 2.3 has a white colony, has a regular (round) shape, a curved / lobed edge, has a flat surface, diplococcus cell shape, and is classified as a gram-negative bacterium. Based on the characteristics of the two isolates, the two isolates tend to have similarities with macroscopic and microscopic characteristics of the *Genus Bacillus.*

Key words: Isolation, Selection, Crude oil, Hydrocarbon degrading bacteria

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

DAFTAR ISI

Halaman Judul i
Lembar Persetujuan Pembimbing ii
Lembar Pengesahan iii
Halaman Pernyataan Keaslian Karya Ilmiah iv
Pedoman Transliterasi v
Halaman Motto/Persembahan vi
Abstrak viii
Kata Pengantar x
Daftar Isi xii
Daftar Tabel xiv
Daftar Gambar xv
Daftar Lampiran xvi
BAB I PENDAHULUAN 1
1.1.Latar Belakang 1
1.2.Rumusan Masalah 6
1.3.Tujuan Penelitian 6
1.4.Manfaat Penelitian 6
1.5.Batasan Masalah 7
BAB II KAJIAN PUSTAKA 8
2.1. Hidrokarbon Minyak Bumi 8
2.2. Pencemaran Tanah oleh Hidrokarbon 9
2.3. Bakteri Indigen Pendegradasi Hidrokarbon 11
2.4. Biodegrdasi Hidrokarbon oleh Bakteri 14
2.5. Teknologi Penyisihan Hidrokarbon Minyak Bumi pada Tanah ... 23
2.6. Pertambangan Minyak Bumi Wonocolo, Bojonegoro 25
BAB III METODE PENELITIAN 28
3.1. Rancangan penelitian 28
3.2. Tempat dan Waktu Penelitian 28
3.3. Alat dan Bahan Penelitian 29
3.4. Variabel Penelitian 29
3.5. Prosedur Penelitian 30

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

3.6. Analisis Data 37
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 38
4.1. Karakter Tanah Tercemar Hidrokarbon Minyak Bumi..... 38
4.2. Potensi Bakteri Indigen Pendegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi Di Tambang Minyak Wonocolo 43
4.3. Isolasi dan Pemurnian Bakteri dari Tambang Minyak Wonocolo ... 44
4.4. Seleksi Isolat bakteri Indigen Pendegradasi hidrokarbon 48
4.5. Pengamatan Maksroskopis dan Mikroskopis Isolat Bakteri 51
BAB V PENUTUP..... 56
5.1. Simpulan 56
5.2. Saran..... 56
DAFTAR PUSTAKA..... 58

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1. Perencanaan Waktu Penelitian 28
Tabel 4.1. Kandungan Hidrokarbon pada Tanah di Tambang Minyak Wonocolo 39
Tabel 4.2 Isolat Bakteri Hasil Isolasi dengan Medium BHMS 46
Tabel 4.3. Pengamatan Makroskopis Koloni Bakteri 51
Tabel 4.4. Pengamatan Mikroskopis Isolat Bakteri 53

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Kurva Pertumbuahn Bakteri 12
Gambar 2.2. Proses Biodegradasi Minyak Bumi oleh Mikroorganisme 15
Gambar 2.3. Mekanisme Degradasi Hidrokarbon Alifatik dengan Enzim Monooksigenase 19
Gambar 2.4. Mekanisme Degradasi Hidrokarbon Alkana Melalui Oksidasi Subterminal 20
Gambar 2.5. Mekanisme Biodegradasi dan Transformasi Molekul PAH oleh Mikroorganisme 21
Gambar 2.6. Lokasi Pertambangan Minyak Bumi Wonocolo, Bojonegoro ... 22
Gambar 3.1. Lokasi Pengambilan Sampel Tanah di Lokasi Pertambangan Minyak Woocolo 26
Gambar 3.2. Morfologi Koloni Bakteri 34
Gambar 3.3. Teknik Pembuatan Pulasan Bakteri 35
Gambar 3.4. Teknik fiksasi 35
Gambar 3.5. Teknik pewarnaan bateri 36
Gambar 4.1. Area Bekas Pengeboran/Sumur Minyak Bumi 38
Gambar 4.2. Tanah Tercemar Minyak Bumi 43
Gambar 4.3. Pengkayaan Bakteri Sampel Tanah pada medium BHMS 45
Gambar 4.4. Isolat Bakteri Sampel 1 dan 2 Hasil Seleksi 49
Gambar 4.5. Pengamatan Mikroskopis Isolat Bakteri Hasil Seleksi 53

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Kegiatan di Lapangan 63
Lampiran 2. Kegiatan di Laboratorium 65

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara penghasil minyak bumi terbesar di dunia. Minyak bumi menjadi salah satu sumber energi dan sumber devisa terbesar bagi negara (Mulyanto, 2018). Pada tahun 2018, produksi minyak bumi Indonesia mencapai kurang lebih 800.000 barrel per hari (Kompas, 2018). Minyak bumi terdiri dari beberapa unsur C, N, S, serta unsur logam seperti Zn, Cu, Ni, Hg, Al, Cd, Pb, Cr, dan lain sebagainya (Rahayu *et al*., 2019). Umumnya minyak bumi terdiri dari beberapa senyawa diantaranya adalah hidrokarbon sikloalkana, alifatik, senyawa aromatik, dan hidrokarbon poli aromatik. Dimana senyawa-senyawa tersebut merupakan senyawa organik dengan susunan rantai karbon. Kompleksnya susunan rantai karbon senyawa tersebut mengakibatkan sulit untuk terurai didalam tanah sehingga mengakibatkan perubahan pada tanah dan memicu terjadinya pencemaran (Munawar, 2012).

Minyak bumi dihasilkan dari aktivitas pengeboran baik dari daratan maupun laut. Aktivitas pengeboran menimbulkan permasalahan baru terhadap lingkungan baik tanah, udara, maupun air. Kontaminasi hidrokarbon pada tanah disekitar lokasi penambangan mengakibatkan kandungan senyawa hidrokarbon sangat tinggi, sehingga kesuburan tanah semakin berkurang (Jain *et al.*, 2011).

Adanya aktivitas pengeboran minyak bumi mengakibatkan tanah yang

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

berada di sekitar lokasi pertambangan memiliki kadar hidrokarbon sebesar 4,35% hingga 12,31%. Kadar tersebut melebihi baku mutu (1%) sebagaimana yang terlampir dalam Kepmen Lingkungan Hidup No. 128 Tahun 2003 (Barakwan, 2017).

Seperti yang telah difirmankan Allah dalam Al-Qur'an surah Ar-Ruum ayat 41 yang berbunyi:

ظَهَرَ ٱلْفَسَادُ فِى ٱلْبَرِّ وَٱلْبَحْرِ بِمَا كَسَبَتْ أَيْدِى ٱلنَّاسِ لِيُذِيقَهُم بَعْضَ ٱلَّذِى عَمِلُوا۟ لَعَلَّهُمْ يَرْجِعُونَ ﴿٤١﴾

Artinya:

"Telah nampak kerusakan di darat dan di laut disebabkan karena perbuatan tangan manusi, supaya Allah merasakan kepada mereka sebahagian dari (akibat) perbuatan mereka, agar mereka kembali (ke jalan yang benar)".

Berdasarkan ayat di atas, menunjukkan bahwa manusia dianjurkan untuk berbuat baik dalam setiap perbuatan yang dilakukan, terutama dalam hal menjaga bumi, di mana manusia dapat mengendalikan dirinya untuk tidak melakukan kerusakan di darat dan di laut, serta senantiasa menjaga dengan sebaik-baiknya.

Lahan bekas pertambangan minyak bumi perlu diolah terlebih dahulu untuk menghilangkan kandungan senyawa hidrokarbon agar mengembalikan sifat keaslian tanah seperti semula. Upaya pengendalian dapat dilakukan dengan cara fisika, kimia, dan biologi. Umumnya pengendalian secara fisika dapat dilakukan dalam waktu yang cepat, namun memerlukan peralatan yang

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

cukup banyak dan biaya yang sangat mahal. Selain itu juga memerlukan banyak tenaga yang besar. Salah satu contoh pengendalian pencemaran hidrokarbon secara fisika yaitu menimbun tanah yang tercemar (Zam, 2011).

Sama halnya dengan pengendalian secara fisika, pengendalian secara kimia juga memerlukan tenaga dan biaya yang cukup tinggi karena menggunakan bahan kimia untuk remediasi. Biasanya dampak yang ditimbulkan setelah pengendalian tersebut adalah bahan kimia itu sendiri, walaupun remediasi secara kimia dapat menghasilkan perubahan dalam waktu yang cepat.

Pengendalian secara biologi memiliki potensi sebagai alternatif untuk perbaikan pencemaran hidrokarbon. Pengendalian ini memiliki beberapa keuntungan yaitu ramah lingkungan dan lebih ekonomis, walaupun membutuhkan waktu yang relatif lama. Pengendalian secara biologi memanfaatkan makhluk hidup baik mikroorganisme maupun tumbuhan (Yudono, 2013).

Mikroorganisme seringkali digunakan sebagai agen bioremediasi secara biologis, misalnya bakteri hidrokarbon atau bakteri yang memanfaatkan hidrokarbon sebagai penunjang aktivitas hidupnya dengan cara merombak senyawa hidrokarbon menjadi bentuk senyawa yang lebih sederhana. Sehingga keberadaan senyawa tersebut tidak berdampak buruk terhadap lingkungan (Yudono, 2013).

Bakteri hidrokarbon adalah bakteri yang mempunyai kemampuan untuk memanfaatkan senyawa hidrokarbon yang diperlukan untuk aktivitas metabolisme bakteri sebagai sumber karbon dan energi. Umumnya kelompok

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

bakteri hidrokarbon memiliki kemampuan beradaptasi dengan mudah pada lingkungannya (Nugroho, 2007). Daerah yang tercemar residu minyak bumi umumnya memiliki kandungan bakteri pendegradasi yang lebih banyak daripada pada daerah yang tidak tercemar minyak bumi (Nusyirwani *et.* Amolle, 2007).

Bakteri hidrokarbon tidak hanya ditemukan di lingkungan darat, namun dapat ditemukan pula pada perairan laut seperti pada lokasi tertentu yang rawan akan tumpahan minyak bumi yang berasal dari kapal-kapal. Seperti dalam penelitian (Nurjanah, 2018), menyatakan bahwa ditemukan tujuh isolat bakteri pendegradasi minyak solar di lokasi Pelabuhan Tanjung Perak, Surabaya. Isolat dari Genus *Pseudomonas* dan Genus *Bacillus* memiliki niai biodegradasi yang tertinggi masing-masing yaitu sebesar 91.94% dan 89.99%. Isolat-isolat bakteri tersebut mampu bertahan hidup pada medium air laut yang memiliki salinitas relatif tinggi dengan memanfaatkan hidrokarbon dari tumpahan minyak di laut sebagai nutrisi.

Menurut Gofar (2012), dalam penelitiannya, menyatakan bahwa bakteri *Pseudomonas alcaligens* memiliki kemampuan mendegradasi hidrokarbon dengan menurunkan TPH (*Total Petroleum Hidrocarbon*) sebesar 63%. Bakteri *Alcaligens faecalis* memiliki kemampuan menurunkan TPH sebesar 70% terhadap tanah lokasi pencemaran itu sendiri. Keberadaan bakteri indigen tidak menimbulkan pencemaran baru terhadap daerah lingkungan yang tercemar, karena lingkungan tersebut merupakan tempat mereka berasal.

Bakteri indigen adalah salah satu agen bioremediasi yang cukup baik.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Bakteri indigen pendegradasi hidrokarbon biasanya banyak ditemukan pada daerah tercemar residu minyak bumi. Bedasarkan penelitian Gofar (2012), menyatakan bahwa ditemukan dua bakteri indigen yaitu bakteri *Pseudomonas alcaligens* dan *Alcaligens faecalis* yang dapat merombak hidrokarbon, masing-masing mampu menurunkan TPH sebesar 63 % dan 70 %.

Bakteri indigen tidak mencemari lingkungan karena berasal dari lingkungan itu sendiri. Maka dari itu perlu dilakukan isolasi dan seleksi bakteri indigen untuk memperoleh isolat bakteri hidrokarbon guna menambah keanekaragaman bakteri pendegradasi hidrokarbon yang berperan sebagai agen pengendalian pencemaran lingkungan didaerah yang tercemar limbah minyak bumi (Gofar, 2012).

Menurut Haripriyatna (2016), dalam penelitiannya melaporkan bahwa dua isolat bakteri indigen hidrokarbon telah didapatkan dari Desa Rambang Dangku yang berpotensi sebagai pendegradasi hidrokarbon minyak bumi. Kedua isolat bakteri tersebut memiliki nilai TPH sebesar > 90%. Sama halnya pada penelitian Rahayu *et al.* (2019), dalam jurnalnya menyatakan bahwa didapatkan empat jenis bakteri pendegradasi hidrokarbon dan bakteri pelarut fosfat dari identifikasi makroskopis dan *microbact identification* yaitu *Pseudomonas fluorescens-25, Pseudomonas pseudomallei, Flavobacterium odoratum,* dan *Enterococcus sp.* Isolat tersebut didapatkan dari sampel tanah disekitar lokasi pengeboran minyak bumi di Wonocolo, Bojonegoro. Namun dalam penelitian tersebut tidak melaporkan nilai biodegradasi dari isolat bakteri yang didapatkan. Maka perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui nilai biodegradasi dari isolat bakteri indigen hidrokarbon yang

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

diisolasi dari wilayah tersebut. Sehingga nantinya dapat dikembangkan lebih jauh terkait penanganan, perbaikan lahan, hingga bioremediasi pada tanah yang tercemar hidrokarbon tersebut.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan paparan yang telah disebutkan di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu:

1. Bagaimana hasil isolasi dan seleksi bakteri indigen pendegrdasi hidrokarbon minyak bumi pada tanah di lokasi tambang minyak Wonocolo?
2. Bagaimana ciri-ciri makroskopis dan mikroskopis isolat bakteri indigen pendegradasi hidrokarbon minyak bumi yang ditemukan?

1.3. Tujuan Penelitian

Berdasarkan paparan yang telah disebutkan di atas, maka tujuan penelitian ini yaitu:

1. Mendapatkan isolat bakteri indigen pendegradasi hidrokarbon minyak bumi pada tanah disekitar tambang minyak Wonocolo, Bojonegoro.
2. Mengetahui ciri-ciri maksroskopis dan mikroskopis isolat bakteri indigen pendegradasi hidrokarbon minyak bumi yang ditemukan.

1.4. Manfaat Penelitian

Berdasarkan paparan yang telah disebutkan di atas, maka manfaat dari penelitian ini yaitu:

1. Memulihkan lahan disekitar tambang minyak di Wonocolo, Bojonegoro

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

melalui bioremediasi berbasis bakteri indigen hidrokarbon.

2. Mengetahui ciri-ciri makroskopis dan mikroskopis isolat bakteri indigen pendegradasi hidrokarbon dari tanah di lokasi tambang minyak di Wonocolo, Bojonegoro.

1.5. Batasan Masalah

Berdasarkan paparan yang telah disebutkan di atas, maka pembatas masalah dalam penelitian ini yaitu:

1. Penelitian ini dilaksanakan secara *ex situ* yaitu dalam skala laboratorium.
2. Sampel yang digunakan berasal dari tanah di area pengangkutan dan pengeboran pada lokasi tambang minyak di Wonocolo, Bojonegoro.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Hidrokarbon Minyak Bumi

Umumnya senyawa yang terkandung dalam minyak bumi tersusun dari unsur C dengan komposisi sebanyak (84-87%), dan unsur H (11-45%) yang disebut dengan hidrokarbon. Selain unsur H dan C, terdapat juga senyawa-senyawa lain seperti S (0,3%), O (0,2%), dan N (0,1%). Meskipun komposisi dan sifat kimia minyak bumi memiliki beberapa variasi, namun umumnya memiliki komposisi elemen yang tetap (Branan, 2002).

Sebagian besar kandungan minyak bumi adalah hidrokarbon, yaitu lebih dari 90%. Tingginya kandungan hidrokarbon mengakibatkan pencemaran lingkungan, misalnya tumpahan minyak bumi yang terjadi disekitar lokasi pengeboran minyak yang mengakibatkan tanah disekitar lokasi tersebut tercemar hidrokarbon yang sulit terdegradasi. Hidrokarbon dalam minyak bumi dapat dikelompokkan menjadi beberapa struktur yaitu, hidrokarbon-alkana (yang terdiri dari metana, haspal dan memiliki atom C lebih dari 25 pada rantainya), hidrokarbon aromatik, hidrokarbon isoalkana (sedikit terkandung dalam komponen minyak bumi), dan hidrokarbon sikloalkana (komponen terbanyak kedua setelah n-alkana) (Mukhtasor, 2006).

Hidrokarbon aromatik merupakan komponen yang jumlahnya lebih sedikit dibandingkan dengn n-alkana. Hidrokarbon aromatik dapat berupa mono siklik (aromatik) dan polisiklik (poli aromatik). Hidrokarbon aromatik terdiri dari satu molekul cincin benzena yang memiliki 6 buah atom.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Sedangkan hidrokarbon poli aromatik atau yang sering disebut dengan PAH *(Polycyclic Aromatic Hydrocarbon)* merupakan senyawa hidrokarbon yang tersusun dua atau lebih molekul cincin benzena. Senyawa PAH memiliki toksisitas tinggi karena dapat menyebabkan hilangnya cairan dalam sel (Munir, 2006).

Berdasarkan kelarutannya dalam pelarut organik, hidrokarbon dapat dibedakan menjadi empat, yaitu:

a. Hidrokarbon jenuh, terdiri dari alkana dengan struktur CnH_2n_{+2} (alifatik), dan CnH_2n (alisiklik), di mana n > 40. Hidrokrbon tersebut merupakan komponen terbanyak dalam minyak bumi.
b. Hidrokarbon aromatik, terdiri dari mono siklik aromatik (BTEX) dan polisiklik aromatik. Contoh polisiklik aromatik hidrokarbon adalah *nephtalene*, *antrhracene*, dan *phenanthrene*.
c. Resin, contoh dari resin yaitu senyawa-senyawa polar yang mengandung unsur N, O, san S.
d. Asphalt. Contoh dari golongan asphalt yaitu senyawa-senyawa yang memiliki berat molekul besar serta logam (Ni, Fe, dan V) (Mangkoediharjo, 2005).

2.2. Pencemaran Tanah oleh Hidrokarbon

Pencemaran tanah adalah keadaan dimana bahan kimia alami dan/atau buatan manusia masuk dan mengubah tatanan tanah alami. Berdasarkan PP No. 150 tahun 2000, disebutkan bahwa kerusakan tanah untuk produksi biomassa adalah berubahnya sifat dasar tanah yang melampaui kriteria baku

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

kerusakan tanah.

Kegiatan eksplorasi dan eksploitasi minyak bumi yang meliputi (pengeboran, produksi, pengilangan, dan transportasi), kebocoran pipa transmisi minyak, kebocoran tanki bawah tanah, pengelolaan pembuangan limbah pengeboran minyak bumi yang kurang baik, tumpahan minyak pada industri, pembuangan bengkel kendaraan, semburan minyak liar, ceceran minyak di pangkalan minyak tanah, dan lain sebagainya berpotensi menyebabkan terjadinya pencemaran tanah oleh hidrokarbon (Yulaikah, 2007).

Minyak bumi mempunyai komponen hidrokarbon yang merupakan senyawa organik (Handrianto *et al*., 2012). Kontaminan hidrokarbon pada tanah yang sulit diuraikan dan bersifat toksik akan mengganggu pertumbuhan tanaman dan organisme lain yang tumbuh di dalamnya.

Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) yang terakumulasi pada tanah akan menyebabkan biomagnifikasi dalam rantai makan manusia karena PAH memiliki sifat mudah larut dalam lemak dalam sistem pencernaan. Selain berdampak pada manusia, PAH juga menimbulkan efek buruk terhadap hewan yang hidup pada lingkungan yang tercemar hidrokarbon PAH, yaitu menimbulkan gangguan pada membran sel dan sistem enzim, karena metabolit PAH dapat mengikat protein dan DNA, hal tersebut dapat menimbulkan kerusakan sel, gangguan reaksi kimia, sistem imunitas, gangguan fertilitas, bahkan apoptosis (Liang *et al.*, 2007).

Tanah yang terkontaminasi hidrokarbon memiliki kandungan mineral yang sangat rendah, sedangkan kandungan hidrokarbonnya sangat tinggi.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Untuk menghilangkan kontaminan tersebut, tanah yang terkontaminasi hidrokarbon perlu diolah terlebih dahulu sebelum digunakan sebagai media pertumbuhan tanaman atau keperluan lainnya. Sebagai langkah alternatif dan efisien, teknologi bioremediasi memiliki potensi yang cukup tinggi untuk menanggulangi permasalahan tersebut. yaitu dengan cara mengubah komponen toksik menjadi komponen-komponen lain yang sifatnya kurang toksik melalui aktivitas mikroorganisme (Millioli *et al.*, 2009).

2.3. Bakteri Indigen Pendegradasi Hidrokarbon

Salah satu agen pengurai yang dapat membantu proses bioremediasi adalah mikroorganisme seperti bakteri. Kelompok bakteri tertentu memanfatkan molekul karbon sebagai sumber nutrisi untuk menunjang proses metabolisme, pertumbuhan, dan aktivitas lain di lingkungannya. Senyawa hidrokarbon yang terkandung dalam minyak bumi dapat dimanfaatkan bakteri sebagai sumber karbon dan energi. Bakteri akan menguraikan senyawa hidrokarbon menjadi bentuk yang lebih sederhana sehingga mudah terurai. Bakteri indigen hidrokarbon adalah bakteri yang berasal dari alam yang merupakan lingkungan habitat aslinya. Dimana lingkungan tersebut telah terkontaminasi hidrokarbon. Sehingga memungkinkan bakteri tersebut dapat mendegradasi hidrokarbon secara maksimal pada lingkungan habitatnya (Munawar, 2008).

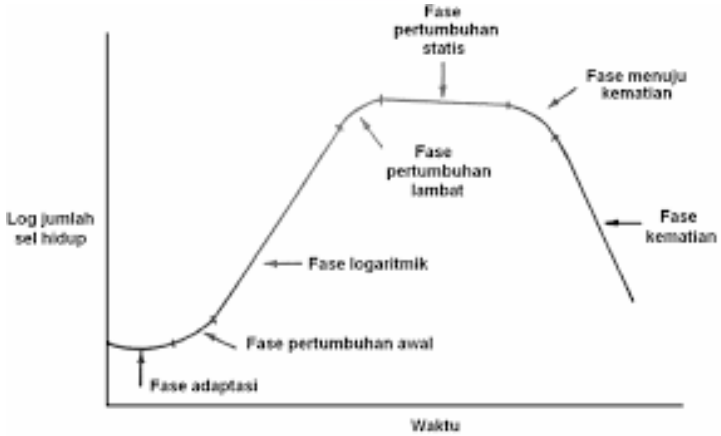
Pseudomonas, Bacillus, Mycobacterium, Butkholderia, Agrobactericum, Sphingomonas, Rhodococcus, dan *Flavobacterium* merupakan beberapa contoh bakteri yang memiliki kemampuan mendegradasi

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

senyawa hidrokarbon. Aktivitas enzimatis pada bakteri hidrokarbon dapat meningkatkan asam organik yang diikuti oleh penurutan pH media tumbuh, yang dapat menghasilkan pelarutan unsur P yang diikat oleh Ca. Menurut penelitian, beberapa asam organik diduga memiliki kemampuan untuk mengurangi toksisitas beberapa unsur logam seperti Al, Fe, Mn, Cu (Rahayu, 2019).

Beberapa genus bakteri hidrokarbon yang keberadaannya paling penting berdasarkan frekuensi isolasi antara lain yaitu: *Bacillus, Pseudomonas, Brevibacterium, Achromobacter, Flavobacterium, Acinetobacter, Mycobacterium, Arthrobacter, Aeromonas Alcaligenes, Benecdea, Corynebacterium, Methylococcus, Methylobacter, Methylomonas, Methvlobacterium, Methylocystis, Micromonospora, Methylosinus, Nocardia, Spirillum* (Nugroho, 2006).

Menurut Pelczar (1986), pertumbuhan bakteri terdiri dari beberapa fase yaitu, fase lag (pertumbuhan awal), fase log (pertumbuhan logaritmik), fase pertumbuhan stasioner, dan fase kematian. Kurva pertumbuhan bakteri dapat dilihat pada gambar 2.1.



Gambar 2.1. Kurva Pertumbuhan Bakteri
Sumber: Ferdiaz, 1992.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

1. Fase Lag (pertumbuhan awal)

   Merupakan fase dimana bakteri beradaptasi atau menyesuaikan diri pada lingkungan baru, serta tidak terjadi pertambahan sel bakteri (Pelczar, 1986). Saat proses adaptasi, bakteri mensintesis enzim baru yang sesuai dengan medium baru (Purwoko, 2007).

2. Fase Log (pertumbuhan logaritmik)

   Merupakan fase dimana pembiakan bakteri berlangsung dengan cepat sesuai dengan kemampuannya untuk merombak substrat. Kecepatan pertumbuhan bakteri hanya ditentukan oleh kemampuannya merombak substrat yang ada di dalam medium. Pada fase ini, laju pertumbuhan bakteri terjadi hingga mencapai titik konstan hingga terjadi perubahan yang signifikan terhadap komposisi medium. Sedangkan jumlah sel bertambah secara linier seiring dengan pertambahan waktu hingga titik jenuh (Pelczar, 1986).

3. Fase Pertumbuhan Stasioner

   Merupakan fase dimana jumlah sel bakteri dalam keadaan tetap, hal ini dikarenakan terjadinya keseimbangan antara jumlah pertumbuhan sel-sel bakteri baru dengan jumlah sel-sel bakteri lama yang mati (Pelczar, 1986).

   Beberapa faktor yang menyebabkan kematian sel pada fase ini yaitu, habisnya nutrien yang terkandung di dalam medium, menipisnya kadar oksigen, penurunan kadar air pada medium, terjadi akumulasi metabolit yang bersifat toksik (alkohol, asam, dan basa) sehingga bakteri akan beradaptasi dengan perubahan kondisi lingkungan tersebut

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

(Purwoko, 2007).

4. Fase kematian

Merupakan fase dimana jumlah sel-sel bakteri yang mati lebih besar daripada jumlah sel-sel yang terbentuk. Karena ketersediaan nutrisi dalam medium telah habis, maka sel bakteri dipaksa untuk melakukan metabolisme terhadap protoplasmanya sendiri. Sehingga sel akan mengalami lisis, dimana terjadi proses difusi nutrien menuju luar sel pada sel yang masih hidup (Pelczar, 1986).

2.4. Biodegradasi Hidrokarbon oleh Bakteri

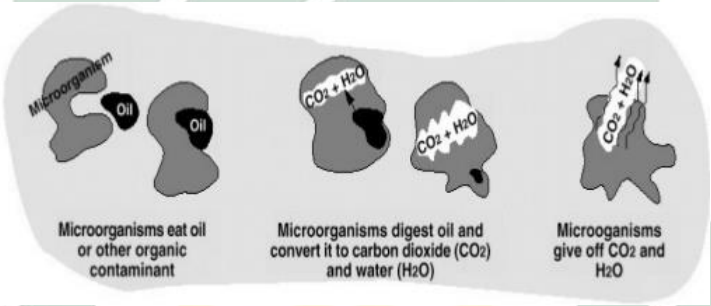
Biodegradasi dilakukan oleh bakteri dengan cara memotong rantai hidrokarbon tersebut menjadi lebih pendek dan melibatkan berbagai enzim. Sistem enzim tersebut dikode oleh kromosom atau plasmid, tergantung pada jenis bakterinya (Nugroho, 2006).

Menurut Gofar (2011), suatu mikroba dapat menguraikan senyawa minyak bumi karena kemampuan mereka dalam mengoksidasi hidrokarbon dan menggunakan zat ini sebagai donor elektron yang terlibat dalam proses pembersihan tumpahan minyak melalui oksidasi minyak bumi menjadi gas karbon dioksida (CO_2). Bakteri menghasilkan gas karbon dioksida yang dapat dimanfaatkan oleh tanaman untuk memproduksi eksudat akar. Eksudat akar digunakan bakteri sebagai sumber energi sehingga membentuk suatu simbiosis yang saling menguntungkan.

Bakteri memiliki peran yang cukup baik dalam proses biodegradasi hidrokarbon. Mikroorganisme menggunakan petroleum sebagai sumber

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

karbon dan energi secara aerob ataupun anaerob. Mikroorganisme aerob paling efisien dan cepat dalam proses degradasi karena reaksi aerob memerlukan lebih sedikit energi bebas untuk inisiasi dan menghasilkan lebih banyak energi. Senyawa hidrokarbon akan didegradasi secara beruntun oleh enzim-enzim, dan oksigen bertindak sebagai akseptor eksternal. Proses biodegradasi minyak bumi oleh mikroorganisme dapat dilihat pada gambar 2.2.



Gambar 2.2. Proses biodegradasi Minyak Bumi oleh mikroorganisme
Sumber: Fitri, 2016.

Biodegradasi melibatkan pemecahan senyawa organik oleh bakteri membentuk biomassa serta senyawa yang lebih sederhana seperti H_2O, CO_2, ataupun metana (Andina, 2014). Produk degradasi dapat mengubah komposisi minyak bumi menjadi fraksi yang ringan didalam minyak bumi, sehingga densitas dan viskositas minyak akan semakin kecil (Nugroho, 2006).

Faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan bioremediasi antara lain yaitu:

a. Bentuk fisik minyak bumi

Hidrokarbon yang dapat diserap dan digunakan oleh bakteri yaitu

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

dalam bentuk cair, sedangkan hidrokarbon dalam bentuk padat hanya dapat didegradasi jika dilarutkan dalam hidrokarbon cair (Nugroho, 2006). Luas permukaan minyak bumi sangat berpengaruh terhadap kerja bakteri dalam proses degradasi karena bakteri bekerja pada interfasa minyak cair. Selain itu, semakin banyak pula koloni bakteri yang tumbuh, serta laju biodegradasi juga semakin meningkat (Andina, 2014).

b. Nutrisi

Kemampuan mikroorganisme dalam mempertahankan hidup sangatlah bergantung pada keberadaan nutrisi yang tersedia pada suatu media tersebut. Nutrisi merupakan penunjang mikroorganisme untuk mempertahankan hidup, bereproduksi, serta menghasilkan enzim-enzim yang digunakan untuk mendegradasi suatu senyawa seperti hidrokarbon ataupun senyawa-senyawa lainya. Jenis mikroorgaisme tertentu membutuhkan nutrisi yang bervariasi sesuai dengam jenis mikroorgaisme, namun nutrisi dengan kandungan nitrogen (N), fosfor (P), dan karbon (C), dibutuhkan oleh seluruh jenis mikroorganisme (Nugroho, 2006).

Unsur C (karbon), merupakan elemen paling dasar bagi semua bentuk kehidupan. Karbon dibutuhkan paling besar jika dibandingkan dengan elemen-elemen lainnya. Unsur C biasanya berikatan dengan unsur H (Hidrogen), O (Oksigen), dan N (Nitrogen). Elemen-elemen tersebut (C, H, O, dan N) menyusun hampir 95% berat massa suatu makhluk hidup (Nugroho, 2006).

Terdapat pula unsur-unsur mineral yang dibutuhkan oleh mikroorgaisme dalam jumlah kecil, seperti Mn (Mangan), Fe (Besi), Zn

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

(Seng), Co (Kobalt), dan Cu (Tembaga). Unsur-unsur tersebut umumya tersedia dalam bentuk garam-garam mineral anorganik serta tersedia dalam kadar yang cukup pada suatu lingkungan, baik tanah maupun perairan (Nugroho, 2006).

c. Suhu

Suhu merupakan faktor penting dalam proses degradasi senyawa hidrokarbon. Terutama pada saat proses metabolisme dan berpengaruh pada pertumbuhan bakteri. Pada lingkungan dengan suhu rendah, hanya fraksi hidrokarbon tertentu yang dapat didegradasi. Sedangkan pada suhu hangat, berbagai fraksi hidrokarbon dapat didegradasi pada kecepatan yang sama (Nugroho, 2006).

d. Oksigen

Oksigen yang larut dalam air maupun dalam bentuk gas di udara dibutuhkan oleh mikroorganisme. Saat proses biodegradasi, oksigen digunakan pada proses reaksi oksidasi dan respirasi mikroba. Ketersediaan oksigen tersebut merupakan hal penting untuk mendukung proses terjadinya biodegradasi pada minyak bumi (Andina, 2014).

Mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon umumnya tergolong dalam mikroorganisme aerob, yaitu membutukan oksigen pada saat melakukan serangkaian reaksi metabolisme. Keberadaan suplai oksigen dalam proses degradasi secara aerob sangat diperlukan karena serangkaian reaksi pada proses degradasi yaitu terjadi oksidasi dan reduksi terhadap oksigen yang berperan sebagai elektron penerima (Baker *et.* Herson, (2000).

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

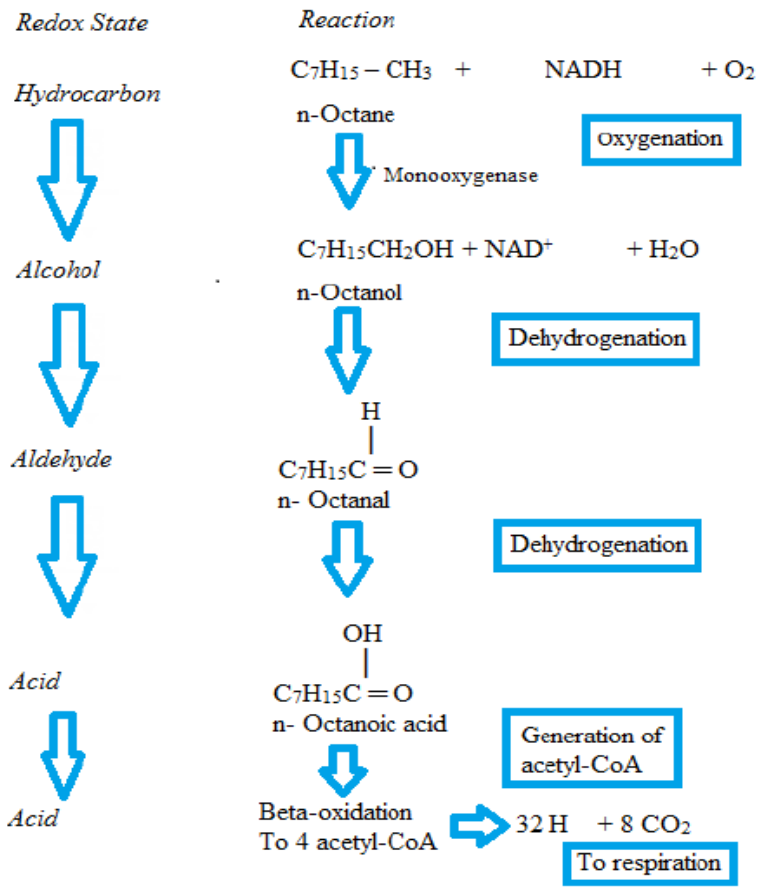
Suplai oksigen sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan suatu mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon. Dalam proses biodegradasi senyawa hidrokarbon, oksigen dipergunaan sebagai jalur untuk mengaktifkan enzim oksigenase. Pertumbuhan suatu bakteri akan terhambat jika keberadaan oksigen terbatas atau sedikit. Selanjutnya untuk tetap memenuhi kebutuhan oksigen dapat dilakukan dengan cara aerasi atau pengkocokan (Silvia *et.* Jusfah, 2010).

e. pH

Menurut Dibble & Bartha (1979), melaporkan bahwa dalam proses biodegradasi, endapan minyak menunjukkan bahwa nilai pH antara 7-8 dapat menghasilkan biodegradasi yang mendekati nilai optimum.

Senyawa hidrokarbon memiliki jenis-jenis yang berbeda berdasarkan susunan molekulnya. Maka dari itu, proses degradasi hidrokarbon juga bervariasi tergantung pada jenis hidrokarbonnya. Jenis hidrokarbon alifatik dapat didegradasi menjadi asam-asam organik oleh enzim, seperti enzim monooksigenase. Berikut ini mekanisme degradasi hidrokarbon alifatik:

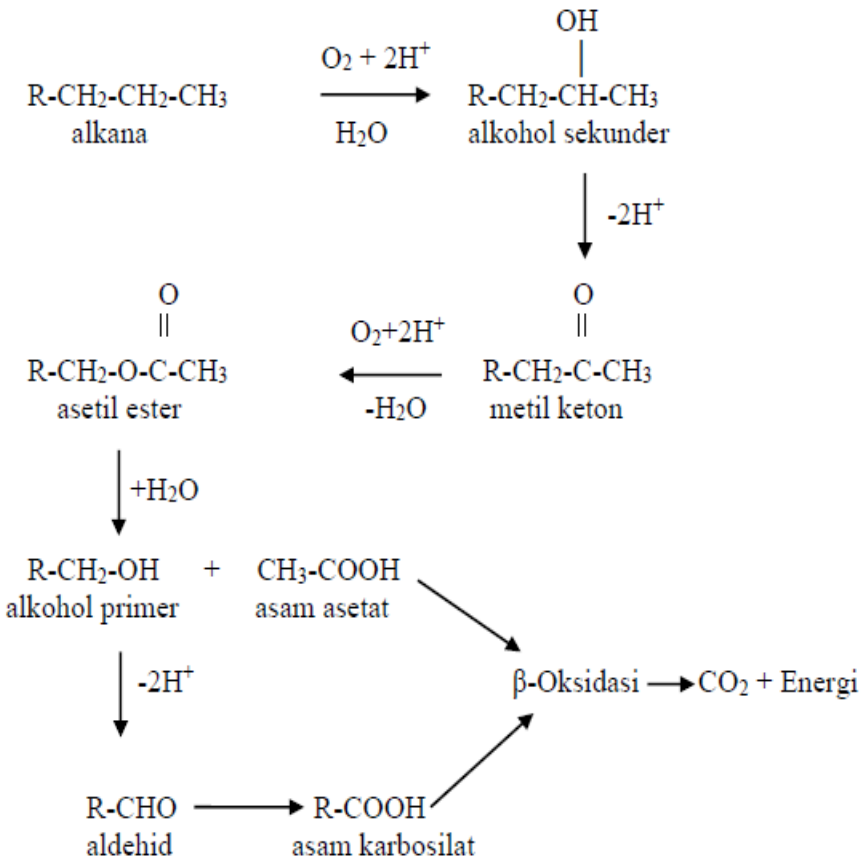
digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id



Gambar 2.3. Mekanisme Degradasi Hidrokarbon Alifatik dengan Enzim Monooksigenase
Sumber: Hajar, 2012.

Biodegradasi hidrokarbon oleh bakteri golongan *Acinetobacter* dapat dilakukan dengan cara mengoksidasi alkana pada atom C terminal, sedangkan bakteri golongan *Pseudomonas* mengoksidasi pada atom C subterminal, yaitu pada atom C nomor 3 sampai 8. Alkana dengan rantai pendek maupun panjang dapat dioksidasi melalui oksidasi terminal. Sedangkan alkana yang memiliki atom C dengan jumlah tujuh atau lebih, dapat teroksidasi melalui oksidasi subterminal. Oksidasi Alkana juga dapat terjadi melaui oksidasi biterminal yaitu oksidasi yang terjadi pada dua gugus metil pada posisi atom karbon terminal dalam satu molekul alkana (Munawar, 2008). Berikut adalah mekanisme degradasi hidrokarbon alkana melalui oksidasi subterminal:

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id



Gambar 2.4. Mekanisme Degradasi Hidrokarbon Alkana Melalui Oksidasi Subterminal
Sumber: Hajar, 2012.

Berdasarkan gambar 2.4 di atas, menunjukkan bahwa mekanisme degradasi hidrokarbon alkana oleh bakteri. Mula-mula bakteri memerlukan oksigen untuk proses oksidasi dengan bantuan enzim oksigenase. Proses oksidasi tersebut mengakibatkan terjadinya penambahan atom O (oksigen) pada terminal rantai karbon membentuk alkohol primer. Kemudian alkohol primer dilanjutkan proses oksidasi lagi dengan menghilangkan 2 atom H sehingga membentuk aldehid menghasilkan asam lemak. Asam lemak yang dihasilkan tersebut melalui jalur beta oksidasi menghasilkan CO_2+H_2O serta energi. Selain itu dihasilkan pula asetil-CoA yang berasal dari potongan dua

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

atom C (karbon) rantai alkane. Kemudian asetil-CoA akan masuk pada siklus krebs dalam proses metabolism. Serangkaian mekanisme degradasi tersebut menjadikan rantai karbon alkane akan berkuran dari Cn menjadi Cn-2. Proses ini akan berlangsung hingga rantai hidrokarbon teroksidasi seluruhnya. Kemudian reaksi degradasi lanjutan akan berlangsung melalui pemisahan dua unit karbon secara berkesinambungan. Reaksi tersebut merupakan reaksi yang umum pada metabolisme sel hidup dan dikenal dengan sekuen beta oksidasi (Yani *et* Akbar, 2009).

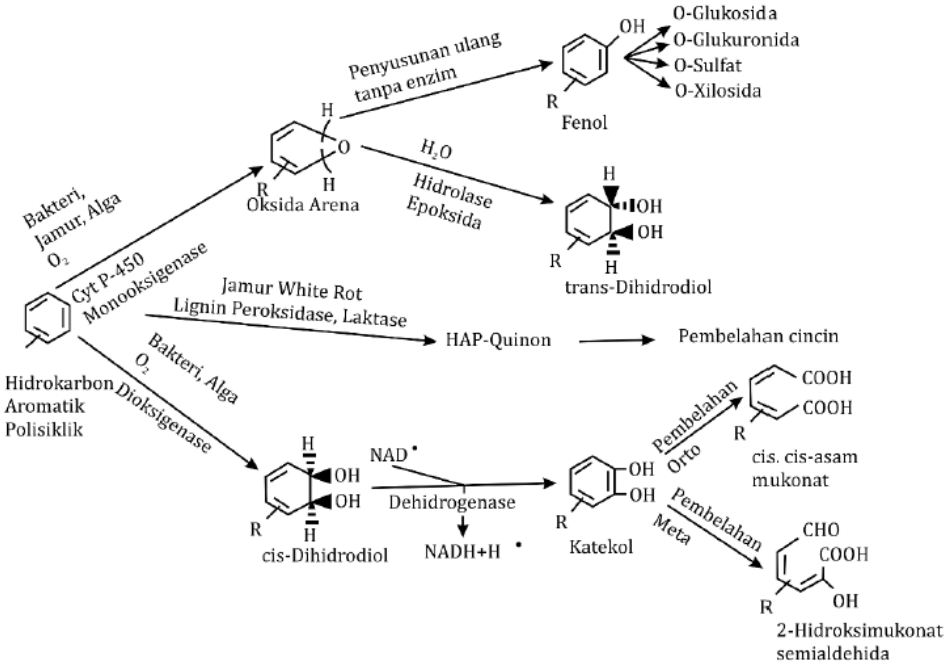
Selain hidrokarbon alkana, hidrokarbon PAH *(Polycyclic Aromatic Hydrocarbon)* juga mampu di degradasi oleh mikroorganisme seperti bakteri pada suatu lingkungan tercemar hidrokarbon. Ketersediaan nutrien yang cukup, faktor abiotik (suhu, pH, kadar air, ketersediaan oksigen), dan peran mikroorganisme merupakan faktor penting dalam berlangsungnya proses biodegradasi PAH *(Polycyclic Aromatic Hydrocarbon)* (Doyle *et al.*, 2008). Menurut Li *et.* Chen (2009), menyatakan bahwa proses biodegradasi molekul PAH *(Polycyclic Aromatic Hydrocarbon)* berlangsung melalui difusi molekul menuju permukaan sel dan dikendalikan oleh enzim, sehingga molekul tersebut dapat dimanfaatkan oleh mikroorganisme. Sebagian besar mikroorganisme dapat menurunkan polutan secara efisien, namun umumnya proses penurunan polutan melalui biodegradasi tersebut berjalan secara lambat sehingga keberadaan polutan tersebut menjadi toksik karena terakumulasi di lingkungan (Cao *et al*., 2009).

Molekul PAH *(Polycyclic Aromatic Hydrocarbon)* yang memiliki jumlah cincin aromatik dan berat molekul yang tinggi akan lebih lambat

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

didegradasi oleh mikroorganisme indigen daripada molekul PAH dengan jumlah cincin substituen alkil dan berat molekul yang rendah (Lors *et al*., 2010).

Proses biodegradasi hidrokarbon oleh mikroorganisme dilakukan dalam keadaan aerob dan anaerob. Biodegradasi hidrokarbon aromatik secara aerob oleh mikroorganisme yaitu menggunakan berbagai enzim perifer untuk mengubah substansi, dan umumnya dilakukan oleh mikroorganisme konsorsium metanogen dan bakteri fototrofik melalui proses fermentasi, reduksi sulfat, reduksi besi, serta reduksi mangan (Nieto *et.* Machuca, 2012). Menurut Chao *et al*. (2009), menyatakan bahwa proses degradasi molekul PAH berlangsung secara cepat dan substantif. Mekanisme proses biodegradasi dan transformasi molekul PAH dapat dilihat pada gambar 2.5.



Gambar 2.5. Mekanisme Biodegradasi dan transformasi molekul PAH oleh mikroorganisme
Sumber: Kurniawan *et al.*, 2018.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

2.5. Teknologi Penyisihan Hidrokarbon Minyak Bumi pada Tanah

Suatu negara maju yang telah memiliki standar kualitas lingkungan khususnya tanah, pemulihan tanah yang tercemar dapat dilakukan dengan tiga cara, yaitu:

1. Penyimpanan tanah yang tercemar dengan cara penggalian kemudian dibawa menuju tempat penyimpanan atau gudang untuk selanjutnya disimpan sementara hingga teknik yang tepat terhadap pengolahan tanah tersebut ditemukan
2. Teknik *ex-situ*, merupakan pengolahan tanah tercemar yang dilakukan di luar lokasi terjadinya pencemaran
3. Teknik *in-situ*, merupakan pengolahan tanah tercemar di tempat terjadinya pencemaran (Barakwan, 2017).

Perbedaan teknik ex-situ dan in-situ adalah tingkat kejenuhan tanah dan aerasi pada area pengolahan. Teknik in-situ didefinisikan sebagai pengolahan tanah terkontaminasi dengan dan air tanah yang mengalami pengadukan sedangkan teknik ex-situ merupakan pengolahan tanah yang telah diisolasi dan diangkat lalu ditambahkan air untuk pengkondisian. Hal ini tentu sangat berpengaruh biostimulan remediasi, dimana kemampuan degradasi mikroorganisme terhadap senyawa organik dan anorganik dapat ditingkatkan.

Jenis-jenis teknik pengolahan tanah terkontaminasi menurut Wang *et al*. (2011) adalah sebagai berikut :

1. *Composting*

Merupakan suatu proses biologis secara aerob dimana padatan organik

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

yang dioksidasi menjadi senyawa yang lebih stabil misalnya humus. Konsentrasi zat organik tinggi dan dan tingkat kelembaban dari kompos tersebut dapat menghasilkan energy panas dimana proses biodegradasi dimulai. Suhu dalam proses *composting* sedikit yang berada di bawah temperature 55°C. Temperatur yang tinggi tersebut berguna untuk membunuh organisme pathogen. Selain itu digunakan pula untuk memperbaiki kondisi lingkungan yang berguna untuk mendegradasi komponen yang sifatnya berbahaya (Barakwan, 2017).

2. *Landfarming*

   Landfarming yang disebut juga sebagai *land treatment* atau *land aplication*, merupakan teknik pemulihan lahan yang dilakukan pada suatu permukaan tanah baik secara *in-situ* maupun *ex-situ*. Teknik *landfarming* merupakan suatu metode pemulihan yang paling awal dilakukan dan sederhana serta sudah umum diterapkan dalam proses remediasi tanah yang tercemar minyak. Peralatan yang dibutuhkan serupa dengan peralatan dalam pembajakan lahan pertanian.

3. Bioaugmentasi

   Merupakan suatu teknik pemulihan tanah yang tercemar dengan cara menambahkan mikroorganisme tertentu pada lokasi yang akan dilakukan remediasi. Biasanya teknik bioaugmentasi diikuti pula dengan penambahan nutrisi tertentu.

4. Biostimulasi

   Merupakan suatu teknik menambahkan nutrisi tertentu yang bertujuan untuk merangsang aktivitas mikroorganisme-mikroorganisme di

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

tempat itu (indigenous).

2.6. Pertambangan Minyak Bumi Wonocolo, Bojonegoro

Pertambangan minyak bumi Wonocolo adalah salah satu pertambangan minyak bumi tradisional yang dikelola rakyat di Kabupaten Bojonegoro. Desa Wonocolo terletak di Kecamatan Kedewan, Kabupaten Bojonegoro. Secara geografis lokasi tersebut terletak di perbatasan antara provinsi Jawa Timur dan Jawa Tengah. Desa Wonocolo didominasi oleh wilayah perbukitan. Desa ini memiliki suhu udara yang rendah dan dikelilingi area hutan yang di sekelilingnya sudah hampir gundul, ada beberapa pepohonan kecil yang belum lama direboisasi. Sebelah Timur Desa Wonocolo berbatasan dengan Desa Banyu Urip, sebelah Selatan berbatasan dengan Desa Ngantru, sebelah barat berbatasan dengan Desa Kedewan, dan sebelah Utara berbatasan dengan Desa Kali Gede. Luas wilayah Desa Wonocolo ± 140 km². Dihuni oleh 460 kepala keluarga atau 1913 jiwa (Naumi dan Trilaksana, 2015). Kondisi kawasan pertambangan minyak bumi rakyat di Wonocolo, Bojonegoro dapat dilihat pada Gambar 2.6.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Gambar 2.6. Lokasi Pertambangan Minyak Bumi Wonocolo, Bojonegoro
Sumber: Dokumentasi Pribadi, 2020.

Latar belakang penambangan minyak tersebut yaitu karena di Desa Wonocolo terdapat banyak sumur tua peninggalan Belanda yang dimanfaatkan kembali pada tahun 1970-an. Karena terjadi kenaikan harga minyak yang tinggi sehingga kegiatan penambangan minyak itu secara ekonomis akan menguntungkan. Proses kegiatan penambangan tersebut pada mulanya dilakukan secara tradisional, namun setelah tahun 1980-an, beralih menggunakan teknologi baru dengan mengggunakan mesin diesel dan mobil bekas untuk menggerakkan pompa minyak. Secara ekonomis kegiatan penambangan minyak bumi kurang menguntungkan bagi penambang, karena sistem pembagian yang kurang adil dan harga yang relatif murah. Namun dibandingkan dengan usaha pertanian tetap lebih menguntungkan. Dampak negatif dari usaha penambangan adalah adanya konflik horizontal antar warga dan pencemaran lingkungan yang perlu mendapat perhatian dari pemerintah (Naumi dan Trilaksana, 2015). Pada kawasan pertambangan minyak bumi

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

rakyat Wonocolo terdapat sejumlah 44 sumur dengan kapasitas produksi 25.771 L/hari (Handrianto et al., 2012).

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini tergolong penelitian eksperimental laboratorium. Menggunakan rancangan penelitian deskriptif kualitatif terhadap hasil isolasi dan seleksi bakteri indigen pendegradasi hidrokarbon pada sampel tanah di area pengangkutan dan area pengeboran di lokasi pertambangan minyak Wonocolo.

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Pengambilan sampel pada penelitian ini dilakukan di sekitar lokasi tambang minyak bumi di Desa Wonocolo, Bojonegoro. Sampel tanah diambil dengan metode *purposive sampling* pada dua titik lokasi yaitu area pengangkutan dan area pengeboran. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi UIN Sunan Ampel Surabaya. Waktu penelitian disajikan dalam tabel 3.1:

Tabel 3.1. Perencanaan Waktu Penelitian

No	**kegiatan**	**Bulan**						
		1	2	3	4	5	6	7
1	Persiapan							
2	Pembuatan proposan skripsi							
3	Seminar proposal							
4	Pengambilan sampel							
5	Pengamatan di laboratorium							
6	Analisis data							
7	Pembuatan draft skripsi							
8	Seminar hasil penelitian							

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

3.3. Alat dan Bahan Penelitian

3.3.1. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain: GPS, kamera, botol sampel, timbangan analitik. mikroskop, autoklaf, *Laminar Air Flow* (LAF), *hot plate*, *incubator shaker*, *vortex mixer*, gelas ukur, erlenmeyer, bunsen, cawan petri, tabung reaksi, rak tabung reaksi erlenmeyer, spatula kaca, spatula besi, jarum ose, *spreader*, kaca preparat, plastik *wrap*, aluminium foil. Kapas, kertas saring, pipet tetes, mikropipet, dan *colony counter*.

3.3.2. Bahan-k

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu sampel tanah yang tercemar hidrokarbon minyak bumi disekitar tambang minyak di Wonocolo, Bojonegoro, akuades, alkohol 70%, NaCl 0,85%, medium *Bushnell Haas Mineral Salt* (BHMS) cair yang terdiri dari (0,02 g $CaCl_2$, 0,2 g $MgSO4._7H_2O$, 1 g K_2HPO_4, 1 g KH_2PO_4, 1 g NH_4NO_3, 2 tetes 60% $FeCl_3$ dan Akuades 1.000 mL), NaCl steril, agar bubuk, medium *Nutrient Agar* (NA), $FePO_4$, pepton, K_2HPO_4, ekstrak ragi, kertas saring, minyak solar, KNO_3, kristal violet, iodium, safranin, dan minyak emersi.

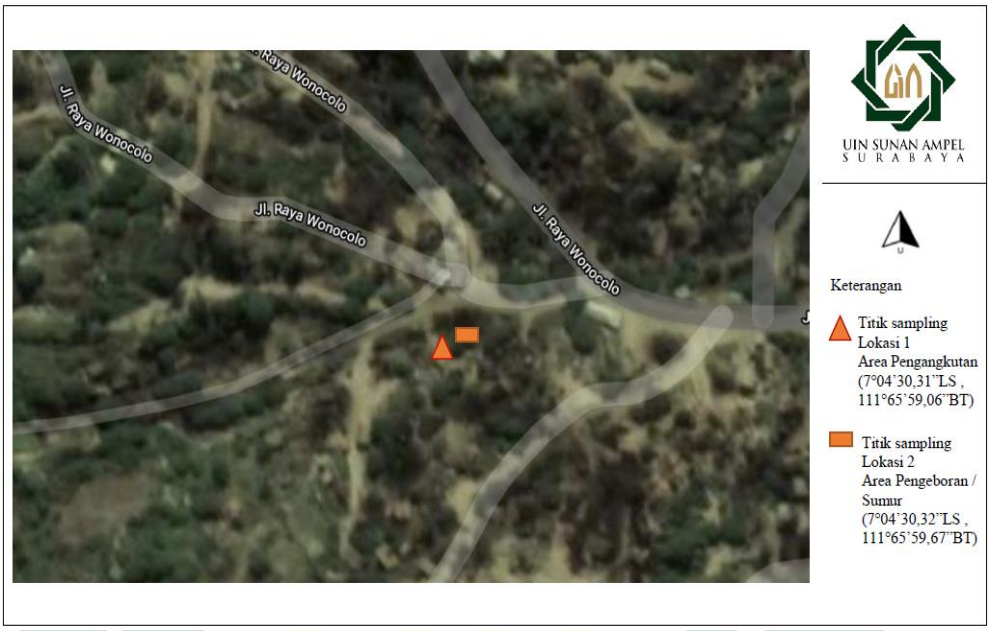
3.4. Variabel Penelitian

Penelitian ini memiliki variabel tunggal, yaitu bakteri indigen pendegradasi hidrokarbon yang berasal dari isolasi sampel tanah di lokasi tambang minyak Wonocolo, Bojonegoro

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

3.5. Prosedur Penelitian

3.5.1. Pengambilan Sampel Tanah



Gambar 3.1. Lokasi Pengambilan Sampel Tanah di Lokasi Pertambangan Minyak Woocolo.
Sumber: Google Maps, 2020.

Pengambilan sampel pada penelitian ini dilakukan di sekitar lokasi pengeboran minyak bumi di Desa Wonocolo, Bojonegoro. Sampel tanah diambil dengan metode *purposive sampling*. Sampel tanah diambil dari dua titik yang berbeda yaitu area pengangkutan (7°04'30,31"LS ,111°65'59,06"BT) dan area pengeboran/ sumur (7°04'30,32"LS ,111°65'59,67"BT). Lokasi pengambilan sampel dapat dilihat pada gambar 3.1 di atas. Sampel tanah diambil pada kedalaman sebanyak 100 gram kurang lebih 10 cm dari permukaan tanah. Kemudian masing-masing sampel dimasukkan kedalam botol steril. Selanjutnya sampel dibawa ke laboratorium untuk dilakukan penelitian.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

3.5.2. Pengkayaan

Tahap pengkayaan dilakukan untuk memperbanyak koloni bakteri yang ada pada sampel. Tahap pengkayaan mengacu pada penelitian Haripriyatna (2016), yaitu sampel tanah ditimbang sebanyak 4,5 gram dan dimasukkan kedalam erlenmeyer yang berisi 45 mL medium *Bushnell Haas Mineral Salt* (BHMS) cair yang telah disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 45 menit. Pembuatan medium BHMS yaitu dengan mencampurkan bahan-bahan antara lain (0,2 g $MgSO_4.7H_2O$, 0,02 g $CaCl_2$, 1 g KH_2PO_4, 1 g K_2HPO_4, 1 g NH_4NO_3, 2 tetes 60% $FeCl_3$ dan Akuades 1.000 mL). Selanjutnya diinkubasi pada *shaker incubator* kurang lebih lima hari pada suhu 30°C dengan laju 100 rpm.

3.5.3. Isolasi Bakteri

Tahap isolasi bakteri mengacu pada penelitian Haripriyatna (2016), yaitu sampel tanah yang telah mengalami proses pengkayaan akan dilakukan pengenceran dengan cara diambil 1 mL larutan sampel dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi 10^{-1} yang berisi 9 mL larutan fisiologis NaCl steril. Diambil lagi 1 mL larutan dari pengenceran 10^{-1} dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi 10^{-2} yang berisi 9 mL larutan fisiologis NaCl steril. Begitu seterusnya hingga diperoleh pengenceran 10^{-6}.

Diambil masing-masing 1 mL dari pengenceran 10^{-4}, 10^{-5}, dan 10^{-6}, kemudian ditumbuhkan pada medium *Bushnell Haas Mineral Salt* (BHMS) padat menggunakan metode *pour plate*, dimana 1 mL

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

sampel yang telah dituang diatas permukaan medium BHMS padat selanjutnya diratakan menggunakan *spreader* kaca dan diinkubasi selama lima hari pada suhu 30°C. Adapun komposisi bahan medium BHMS padat adalah sama dengan pada saat tahapan pengkayaan, namun dalam tahap ini ditambahkan 15 gram agar dalam komposisinya.

Setelah diinkubasi, koloni bakteri diinokulasi ke medium *Nutrien Agar* (NA) padat pada cawan petri. Masing-masing koloni bakteri yang tumbuh dan memiliki karakteristik yang berbeda akan diinokulasi menggunakan metode *streak plate* dengan jarum ose diatas permukaan medium NA. Selanjutnya diikubasi kembali selama lima hari pada suhu 30°C.

3.5.4. Seleksi Isolat

Tahapan seleksi isolat mengacu pada penelitian Haripriyatna (2016), Masing-masing koloni bakteri yang tumbuh pada tahap isolasi selanjutnya dilakukan seleksi untuk mengetahui kemampuan suatu bakteri tersebut dalam mendegradasi senyawa pada minyak bumi. Terdapat dua tahap seleksi yang dilakukan, yaitu:

a. Seleksi Isolat Bakteri

Seleksi isolat bakteri menggunakan medium Zobell padat. Medium Zobell dibuat dengan komposisi bahan yaitu 0,01 gram FePO4, 0,012 gram K_2HPO_4, 5 gram pepton, 1 gram ekstrak ragi, aquadest 1.000 mL dan ditambah 15 g agar. Bahan-bahan tersebut dihomogenkan kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

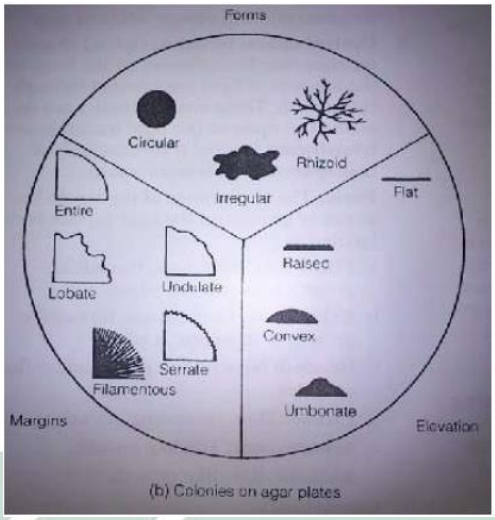
suhu 121°C selama kurang lebih 45 menit. Diambil sampel menggunakan jarum ose kemudian diinokulasikan diatas permukaan medium. Selanjutnya disiapkan potongan kertas saring dengan ukuran mulut cawan petri, diolesi kertas saring tersebut dengan residu minyak bumi, lalu kertas saring yang telah diolesi residu minyak bumi diletakkan diatas permukaan medium, selanjutnya kultur bakteri diinkubasi pada suhu 30^0C selama lima hari.

3.5.5. Identifikasi Makroskopis Koloni Bakteri

Identifikasi isolat bakteri secara makroskopis dilakukan dengan pengamatan karakteristik koloni bakteri, meliputi:

a. Bentuk koloni (dilihat dari bagian atas). Meliputi: berbentuk bulat (*circular*), tidak beraturan (*irregular*), berbentuk seperti akar dan menyebar (*rhizoid*).
b. Warna koloni. Meliputi: putih, putih kekuningan, kekuningan, kelabu, hampir bening.
c. Tepian koloni (dilihat dari bagian atas). Meliputi: tepian rata (*entire*), berombak/berlekuk (*lobate*), bergerigi (*serrate*), benang (*filamentous*), keriting (*undulate*)
d. Permukaan koloni/elevasi (dilihat dari samping). Meliputi: permukaan koloni datar (*flat*), timbul melengkung (*convex*), timbul-datar (*raised*), membukit (*umbonate*). Pengamatan karakteristik koloni bakteri dapat dilihat pada gambar 3.2.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id



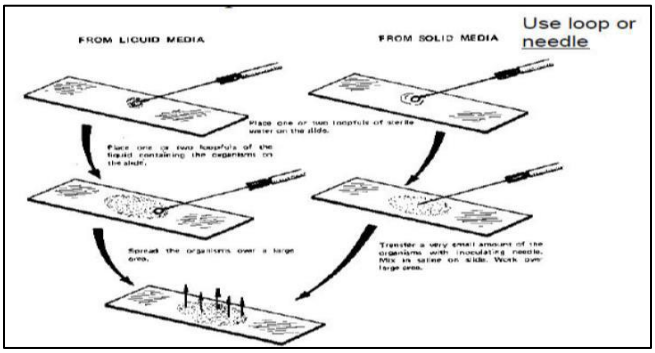
Gambar 3.2. Morfologi Koloni Bakteri
(Sumber: Andina, 2014).

3.5.6. Identifikasi Mikroskopis Bakteri

a. Pewarnaan Gram

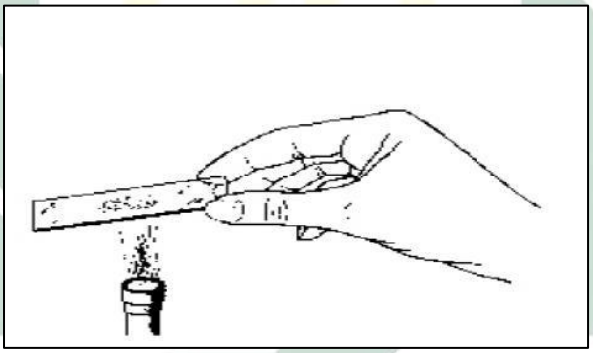
Salah satu teknik untuk mengidentifikasi suatu bakteri yaitu dengan pewarnaan. Pewarnaan gram dilakukan untuk mengetahui golongan bakteri gram positif atau gram negatif. Langkah-langkah pewarnaan gram mengacu pada penelitian Nurjanah (2018), yaitu masing-masing koloni bakteri yang telah terseleksi diambil satu ose dan diratakan pada permukaan gelas objek. Teknik pembuatan pulasan bakteri dapat dilihat pada gambar 3.3.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id



Gambar 3.3. Teknik Pembuatan Pulasan Bakteri
(Sumber : Pelczar, 2008).

Selanjutnya dilakukan fiksasi dengan cara dilewatkan diatas api bunsen sebanyak tiga kali. Teknik fiksasi dapat dilihat pada gambar 3.4 berikut:



Gambar 3.4. Teknik fiksasi
(Sumber : Pelczar, 2008).

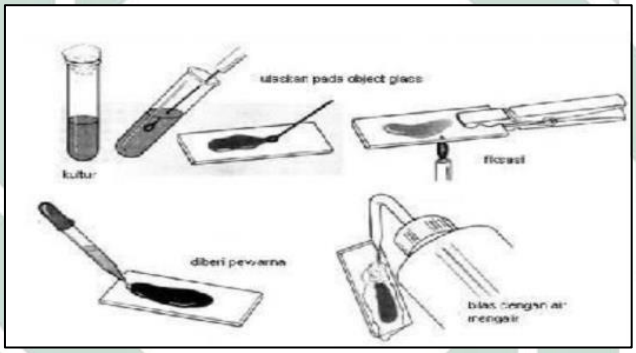
Olesan bakteri yang telah difiksasi selanjutnya ditetesi dengan pewarna kristal violet dan diratakan. Setelah didiamkan selama satu menit, pewarna tersebut dibilas menggunakan air mengair dengan debit rendah.

Selanjutnya diteteskan iodium di atas gelas objek dan diratakan. Setelah didiamkan selama 1-2 menit, iodium dibilas

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

menggunakan air mengair dengan debit rendah. Selanjutnya tahap decolorisasi menggunakan alkohol 96% kurang lebih selama 20 detik hingga warna ungu menghilang.

Pewarnaan terakhir menggunakan safranin, diratakan dan didiamkan selama 2 menit, dibilas kembali pada air mengair dengan debit rendah. Kemudian dikering anginkan, terakhir ditetesi minyak emersi dan diamati dibawah mikroskop perbesaran 100x10. Teknik pewarnaan bakteri dapat dilihat pada gambar 3.5.



Gambar 3.5. Teknik pewarnaan bateri
(Sumber : Pelczar, 2008).

b. Bentuk Sel Bakteri

Pengamatan bentuk sel bakteri dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran kuat. Dimana nantinya akan diketahui bentuk sel bakteri pada isolat, apakah memiliki bentuk bulat (*coccus*), batang (*basil*), ataupun spiral (*spirilia*).

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

3.6. Analisis Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan deskriptif kualitatif terhadap hasil pengamatan isolat bakteri yang diduga bakteri pendegradasi hidrokarbon. Data yang diperoleh dari penelitian ini ditampilkan dalam bentuk tabel, dan gambar.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Karakter Tanah Tercemar Hidrokarbon Minyak Bumi

Sampel tanah yang digunakan dalam penelitian ini yaitu berasal dari lokasi pertambangan minyak bumi Wonocolo, Bojonegoro. Sampel tanah diambil dari dua lokasi yang berbeda, yaitu area pengangkutan dan pengeboran. Area bekas pengeboran/sumur dapat dilihat pada gambar 4.1 berikut:

Gambar 4.1. Area Bekas Pengeboran/Sumur Minyak Bumi
Sumber : Dokumentasi pribadi, 2020.

Menurut Barakwan (2017), dalam penelitiannya mengenai karakteristik tanah yang tercemar hidrokarbon minyak bumi di beberapa lokasi di tambang minyak Wonocolo. Data hasil analisis kadar hidrokarbon yang telah dilakukan Barakwan (2017) disajikan dalam tabel 4.1:

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Tabel 4.1. Kandungan Hidrokarbon pada Tanah di Tambang Minyak Wonocolo

No	Jenis Tanah	Kadar Hidrokarbon %	
		Sampel Tanah	Baku Mutu (*)
1	Tanah Penyulingan	12.31	1
2	Tanah Pengangkutan	4.35	1
3	Tanah Sumur	8.34	1
4	Tanah komposit	6.05	1

Sumber: Barakwan, 2017
(*)Kepmen LH No. 128 Tahun 2003

Berdasarkan tabel 4.1 diatas, menunjukkan bahwa hasil uji kadar hidrokarbon pada keempat sampel tanah tersebut termasuk tinggi. Adapun batas baku mutu kadar hidrokarbon pada tanah menurut Keputusan Menteri Lingkungan Hidup No. 128 Tahun 2003 yaitu sebesar 1%. Sedangkan hasil uji pada keempat sampel tanah di lokasi tambang minyak Wonocolo secara berturut-turut sebagai berikut: 12.31%, 4,35%, 8,34%, dan 6,05%. Kadar hidrokarbon dari keempat sampel tersebut jauh melebihi batas baku mutu yaitu 1%. Maka dari itu proses penyisihan hidrokarbon pada tanah perlu dilakukan sehingga kadar hidrokarbon pada tanah di lokasi tambang minyak Wonocolo dapat memenuhi standard baku mutu yang berlaku (Barakwan, 2017).

Berdasarkan tabel 4.1, dapat dilihat pula kadar hidrokarbon terbesar adalah pada tanah di area penyulingan yaitu sebesar 12,31%. Hal ini disebabkan pada area penyulingan terdapat banyak ceceran baik berupa minyak mentah ataupun hasil olahan dimana proses produksinya dilakukan dengan alat-alat sederhana yang rawan kecelakaan dan kebakaran. Selain itu, proses penyulingan minyak bumi dilakukan di dalam tanah dengan

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

menggali lubang-lubang sehingga kadar hidrokarbon dalam tanah penyulingan tinggi. Pada tanah di area sumur kadar hidrokarbon juga tinggi yaitu sebesar 8,34%. Pada tanah sekitar area sumur / pengeboran sering terkena percikan minyak bumi ketika sumur dioperasikan namun tidak sebanyak ceceran pada area penyulingan karena pengoperasian sumur tidak setiap hari. Selain itu ada beberapa area sumur yang menjadi satu atau jaraknya berdekatan dengan area penyulingan. Kadar hidrokarbon di sepanjang jalur pengangkutan sebesar 4,35%, kadar hidrokarbon ini lebih rendah daripada area penyulingan dan pengeboran karena tumpahan atau ceceran minyak di area ini memiliki frekuensi yang tidak sebesar tanah di area penyulingan dan sumur (Barakwan, 2017).

Kontaminan hidrokarbon dari tumpahan minyak bumi pada tanah di lokasi tambang minyak Wonocolo yang sulit diuraikan dan bersifat toksik akan mengganggu pertumbuhan tanaman dan organisme lain yang tumbuh di dalamnya, sehingga mengganggu keseimbangan ekosistem di lokasi tersebut.

Tatanan lingkungan hidup (ekosistem) yang diciptakan Allah SWT memiliki hukum keseimbangan. Hubungan timbal balik baik antara komponen hidup dengan lingkungan, maupun manusia dengan komponen-komponen alam harus berlangsung dengan keseimbangan. Apabila terjadi gangguan terhadap keseimbangan dalam lingkungan (ekosistem). Maka akan mengakibatkan adanya kerusakan ekosistem, termasuk karena adanya pencemaran hidrokarbon yang mengganggu keseimbangan ekosistem di lokasi tambang minyak Wonocolo (Kotijah, 2013).

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Kadar hidrokarbon di alam dapat berkurang ataupun bertambah, hal itu tidak terlepas dari aktifitas manusia yang dapat mencemari lingkungan (ekosistem) yang akhirnya akan merugikan manusia itu sendiri. Sebagaimana yang telah tercantum dalam Al-Qur'an surat Al-Mulk (67): ayat 3

ٱلَّذِى خَلَقَ سَبْعَ سَمَٰوَٰتٍ طِبَاقًا ۖ مَّا تَرَىٰ فِى خَلْقِ ٱلرَّحْمَٰنِ مِن تَفَٰوُتٍ ۖ فَٱرْجِعِ ٱلْبَصَرَ هَلْ تَرَىٰ

مِن فُطُورٍ ۝٣

Artinya:

"Yang telah menciptakan tujuh langit berlapis-lapis. Kamu sekali-kali tidak melihat pada ciptaan Tuhan Yang Maha Pemurah sesuatu yang tidak seimbang. Maka lihatlah berulang-ulang, adakah kamu lihat sesuatu yang tidak seimbang".

Menurut Shihab (2002), dalam Tafsir Al-Mishbah, kata *Tafawut* pada mulanya memiliki arti kejauhan. Dua hal yang berjauhan mengesankan pada ketidakseimbangan. Allah SWT menciptakan langit dan seluruh makhluk dalam keadaan seimbang sebagai rahmat. Seandainya ciptaan Allah tidak seimbang, maka akan terjadi kekacauan antara yang satu dengan yang lainnya, sehingga akan mengganggu kenyamanan hidup manusia di bumi. Salah satu contoh ketidakseimbangan itu adalah keberadaan hidrokarbon di permukaan tanah yang mulanya menjadi sumber tambang yang menguntungkan, akibat ulah tangan manusia yang kurang bijak dalam mengeksploitasi sumber daya alam dan secara berlebihan, sehingga

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

menyebabkan terjadinya pencemaran hidrokarbon minyak bumi yang merugikan alam dan manusia.

Hidrokarbon yang memiliki efek paling berbahaya dan sangat potensial mencemari lingkungan yaitu hidrokarbon aromatik PAH (*Polycyclic Aromatic Hydrocarbons)* (Handrianto *et al*., 2012). Efek dari pencemaran hidrokarbon yaitu mengakibatkan tanah di lokasi tambang minyak Wonocolo menjadi gersang, kering dan tidak subur, serta hanya tumbuhan tertentu yang mampu bertahan hidup seperti rerumputan. Hal ini disebabkan efek kandungan hidrokarbon terutama PAH pada tanah tersebut mengganggu pertumbuhan tumbuhan. Efek toksik dan sifat karsinogenik yang ditimbulkan dari senyawa hidrokarbon PAH mengakibatkan tumbuhan mengalami gangguan bahkan kematian melalui sedimen dan akar. Kondisi ini dapat mengganggu pengendalian pertukaran garam-garam mineral pada akar dan daun. Keberadaan senyawa PAH pada tanah dapat mengakibatkan peningkatan mutasi pada tumbuhan, dimana kandungan klorofil pada daun tumbuhan menjadi menurun (Rachmawani *et al.*, 2015).

Selain efek toksik, keberadaan hidrokarbon mengakibatkan kandungan C-organik dan Nitrogen dalam tanah menjadi rendah bahkan sangat rendah, sehingga nutrien yang rendah tersebut tidak mampu mencukupi kebutuhan nutrien suatu tumbuhan dan akhirnya mengalami kematian. Namun beberapa tumbuhan seperti kelompok rerumputan mampu bertahan hidup pada tanah yang terkontaminasi hidrokarbon, tumbuhan tersebut toleran terhadap senyawa hidrokarbon dengan cara mengakumulasi senyawa-senyawa hidrokarbon melalui perakaran yang banyak, kuat, dan

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

sebaran akarnya yang baik (Jink *et al.*, 2008).

4.2. Potensi Bakteri Indigen Pendegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi di Tambang Minyak Wonocolo

Secara visual kondisi tanah di sekitar tempat pengeboran minyak bumi tidak layak ditumbuhi tanaman. Tanah di sekitar tempat pengeboran hanya ditumbuhi oleh rerumputan. Tanah tersebut juga mengalami pencemaran akibat tumpahnya minyak dari sisa pengeboran.

Minyak sisa pengeboran yang masuk dan terserap ke dalam tanah sehingga dapat mempengaruhi karakteristik tanah. Beberapa karakteristik tanah disekitar tambang minyak Wonocolo yang tercemar minyak bumi dapat diamati dari warna, dan bau. Tanah yang tercemar minyak bumi umumnya berwarna hitam gelap dan berbau seperti minyak bumi (dapat dilihat pada gambar 4.2). Karakteristik di atas menandakan keberadaan bakteri pendegradasi hidrokarbon pada tanah tersebut.

Gambar 4.2. Tanah tercemar minyak bumi
Sumber : Dokumentasi pribadi, 2020.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Penggunaan bakteri indigen hidrokarbon dari tanah disekitar tambang minyak bumi Wonocolo berpotensi untuk mendegradasi minyak bumi di lingkungan yang tercemar pada wilayah tersebut dengan lebih baik, karena bakteri indigen merupakan bakteri yang berasal dari lokasi pencemaran itu sendiri. Bakteri tersebut akan memanfaatkan minyak bumi yang terkandung di dalam tanah tersebut sebagai sumber nutrisisnya.

4.3. Isolasi dan Pemurnian Bakteri dari Tambang Minyak Wonocolo

Bakteri dari tanah disekitar tambang minyak Wonocolo ditemukan dalam bentuk populasi mikroba campuran. Bakteri indigen pendegradasi hidrokarbon dapat ditumbuhkan dengan menggunakan media selektif, penggunaan media tersebut digunakan untuk menumbuhakan bakteri tertentu yang dikehendaki serta dapat menghambat bakteri non target.

Media yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri campuran yaitu menggunakan media *Bushnell Haas Mineral Salt* (BHMS) cair yang terdiri dari (0,02 g $CaCl_2$, 0,2 g $MgSO4._7H_2O$, 1 g K_2HPO_4, 1 g KH_2PO_4, 1 g NH_4NO_3, 2 tetes 60% $FeCl_3$ dan Akuades 1.000 mL). Media tersebut merupakan media umum yang kaya akan nutrisi untuk menunjang pertumbuhan mikroba campuran. Sehingga berbagai jenis bakteri yang berada pada akan dapat tumbuh. Isolasi bakteri pada medium BHMS cair dapat dilihat pada gambar 4.2.

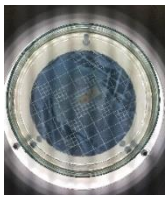
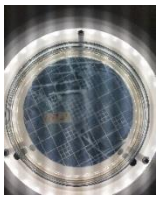
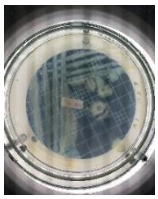
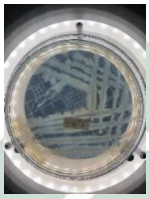
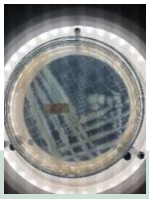
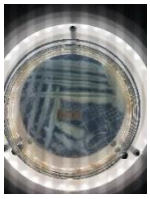
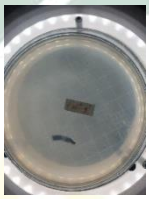
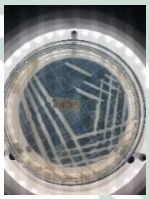
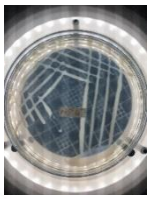
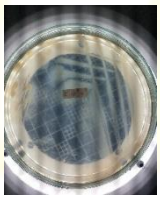
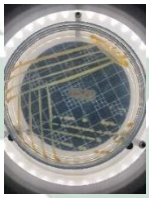
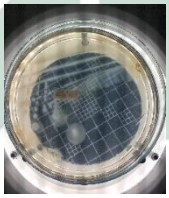
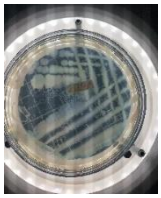
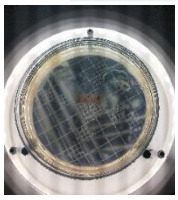
digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Gambar 4.3. Pengkayaan Bakteri Tanah 1 dan 2 pada Medium BHMS
Sumber : Data primer penelitian, 2020.

Ditemukan 14 isolat bakteri hasil isolasi pada medium BHMS. Ke-14 isolat tersebut didapatkan dari dua sampel pada lokasi yang berbeda. Agar didapatkan biakan murni bakteri, maka dilakukan pemurnian bakteri. Pemurnian pada penelitian ini dilakukan sebanyak 7 kali hingga didapatkan biakan bakteri yang murni. Kemudian biakan bakteri yang telah murni dilakukan seleksi untuk mendapatkan isolat bakteri hidrokarbonoklastik menggunakan media selektif (Zobell).

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Tabel 4.2. Isolat bakteri hasil isolasi bakteri dengan medium BHMS

Sampel	**Lokasi pengambilan**	**Isolat bakteri**					
1	Lokasi pengangkutan	Kode	Gambar	Kode	Gambar	Kode	Gambar
		1.1		1.2		1.3	
		1.4		1.5		1.6	
		1.7		1.8		1.9	
		1.10					
2	Lokasi Pengeboran	2.1		2.2		2.3	
		2.4					

Berdasarkan tabel 4.2, menunjukkan bahwa terdapat 14 jenis isolat bakteri hasil isolasi dengan medium BHMS. Ke-14 isolat tersebut apabila diamati secara visual memiliki perbedaan dari segi morfologi koloninya.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Sehingga isolat yang memiliki perbedaan secara visual tersebut di pisahkan pada cawan yang berbeda.

Kedua sampel tersebut berasal dari lokasi pertambangan minyak Wonocolo. Sampel 1 yaitu tanah yang diambil dari area pengangkutan, sedangkan sampel 2 yaitu tanah yang diambil dari area pengeboran.

Didapatkan sebanyak sepuluh isolat bakteri dari sampel 1 (tanah area pengangkutan) dan empat isolat bakteri dari sampel 2 (tanah area pengeboran). Sampel 1 memiliki isolat bakteri lebih banyak daripada isolat bakteri yang didapatkan pada sampel 2, hal ini diakibatkan oleh kadar hidrokarbon pada tanah di area pengangkutan lebih rendah daripada kadar hidrokarbon pada tanah di area pengeboran. Menurut Barakwan (2017) dalam penelitiannya melaporkan bahwa pada lokasi tambang minyak Wonocolo di area pengangkutan, presentase kadar hidrokarbon pada tanah tersebut sebesar 4,35%, sedangkan kadar hidrokarbon pada tanah di area pengeboran (sumur) sebesar 8,34%. Tingginya kadar hidrokarbon pada tanah di area pengeboran tersebut mengakibatkan tanah tersebut memiliki tingkat pencemaran yang lebih tinggi daripada tanah di area pengangkutan. Hal ini mengakibatkan populasi jenis bakteri yang mampu hidup pada tanah di area pengangkutan lebih banyak daripada jumlah populai bakteri pada tanah di area pengeboran (sumur).

Tanah yang tercemar hidrokarbon memiliki kandungan mineral organik yang rendah. Menurut Haripriyatna (2016), dalam penelitiannya mengungkapkan bahwa Kandungan C-organik dan Nitrogen pada tanah yang tercemar hidrokarbon tergolong rendah bahkan sangat rendah. Hal ini

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

mengakibatkan kondisi tanah tersebut tidak menunjang pertumbuhan mikroorganisme tanah khususnya populasi bakteri tanah. Sehingga hanya jenis bakteri tertentu yang mampu bertahan hidup pada tanah dengan kondisi tersebut.

Mengacu pada penelitian Haripriyatna (2016), kondisi tanah pada lokasi tambang minyak Wonocolo di area pengeboran memiliki kadar hidrokarbon yang tebih tinggi dibandingkan tanah di area pengangkutan. Hal ini berpengaruh pula terhadap Kandungan C-organik dan Nitrogen pada tanah di area pengeboran (sampel 2) yaitu lebih rendah daripada Kandungan C-organik dan Nitrogen pada tanah di area pengangkutan (sampel 1). Kinerja bakteri untuk mendegradasi hidrokarbon minyak bumi pada tanah menjadi tidak maksimal, akibatnya minyak bumi yang dengan kadar hidrokarbon yang tinggi pada tanah sampel 2 mengakibatkan perombakan yang lebih lambat, Sehingga dalam penelitian ini pada sampel 1 didapatkan populasi jenis bakteri yang lebih banyak dibandingkan dengan populasi jenis bakteri pada tanah sampel 2.

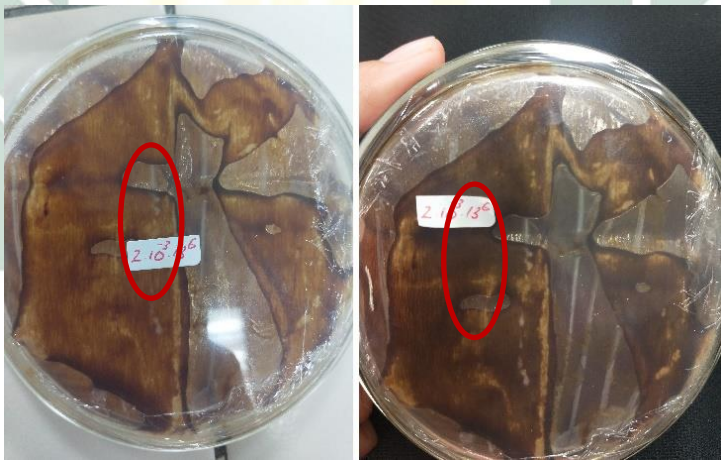
4.4. Seleksi Isolat Bakteri Indigen Pendegradasi Hidrokarbon

Tahap seleksi isolat bakteri hidrokarbon dilakukan pada medium Zobell padat yang telah diberikan residu minyak bumi di atas permukaannya, residu minyak bumi dioleskan pada kertas saring dengan ukuran sesuai diameter cawan petri, sehingga kertas saring yang telah diolesi residu minyak bumi tersebut dapat menutupi seluruh permukaan medium Zobell. Medium tersebut merupakan medium selektif karena pada

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

medium tersebut telah dioleskan residu minyak bumi.

Setelah diinkubasi selama lima hari, didapatkan dua isolat bakteri pendegradasi hidrokarbon minyak bumi pada tahap seleksi tersebut, hal ini mengindikasikan bahwa bakteri tersebut mampu tumbuh dan bertahan pada medium Zobell yang telah diberikan residu minyak bumi. Isolat bakteri tersebut mampu bertahan hidup dengan cara memanfaatkan senyawa hidrokarbon yang terkandung pada residu minyak bumi tersebut. Isolat bakteri yang diindikasikan sebagai bakteri pendegradasi hidrokarbon dapat dilihat pada gambar 4.4. Bakteri yang tumbuh pada medium Zobell diduga dapat tumbuh pada tanah yang tercemar minyak bumi, serta mampu mendegradasi minyak bumi.



Gambar 4.4 Isolat Bakteri Kode 2.3 Hasil Seleksi
Sumber : Data primer penelitian, 2020.

Isolat bakteri hidrokarbonoklastik yang mampu bertahan pada media selektif Zobell selanjutnya diinokulasikan pada media NA dengan metode *pour plate.* Agar didapatkan biakan bakteri murni, maka dilakukan pemurnian biakan menggunakan metode *streak plate*. Setiap koloni yang

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

berbeda dimurnikan kembali pada media yang serupa untuk mendapatkan koloni tunggal. Setelah koloni pada media cawan petri serupa, menandakan bahwa koloni bakteri pada cawan telah murni. Sehingga didapatkan biakan bakteri yang murni.

Bakteri yang diduga bakteri hidrokarbnoklastik pada penelitian ini ditunjukkan pada gambar 4.4 diatas, yaitu terdapat koloni bakteri berwarna putih yang dapat tumbuh dan bertahan hidup pada media selektif yaitu diberikan perlakuan penambahan residu minyak bumi diatas permukaan medium.

Bakteri menggunakan hidrokarbon minyak bumi sebagai sumber energi untuk pertumbuhannya. Menurut Hadestyariki *et al.* (2013), minyak bumi pada media mengaktifkan enzim pada bakteri untuk mendegradasi hidrokarbon minyak bumi agar dapat dimanfaatkan bakteri tersebut sebagai sumber energi.

Menurut Siregar (2009), bakteri melakukan degradasi minyak dengan cara mengeluarkan enzim. Enzim tersebut mampu memecah senyawa organik kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana. Bakteri mendegradasi minyak dengan cara mengoksidasi substrat hidrokarbon dengan menggunakan enzim monoksigenase yang mengoksidasin n-alkana menjadi alkohol. Selanjutnya alkohol dioksidasi menjadi aldehid kemudian dihidroksilasi menjadi asam lemak. Hasil akhir tersebut berupa asam lemak yang kemudian menuju jalur β oksidasi yang akan memecah dua fragmen atom C (karbon) secara berurutan (Hajar, 2012).

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

4.5. Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis Isolat Bakteri

Hasil seleksi bakteri yang telah dilakukan memperoleh dua isolat bakteri pendegradasi hidrokarbon, yaitu isolat 1.6 dan isolat 2.3. Isolat 1.6 diperoleh dari sampel tanah 1 yang didapatkan dari area pengangkutan, sedangkan isolat 2.3 berasal dari sampel tanah 2 yang didapatkan dari area pengeboran. Kedua isolat tersebut kemudian dilakukan pengamatan secara makroskopis dan mikrokopis.

Berdasarkan hasil isolasi dan seleksi, ditemukan koloni bakteri indigen pendegradasi hidrokarbon. Morfologi koloni bakteri jika dilihat dari luar tnampak sama, namun selanjutnya diidentifikasi melalui pengamatan secara makroskopik untuk ukuran, warna, bentuk, tepian, elevasi dan permukaan koloni bakteri, sedangkan secara mikroskopik yaitu dengan melakukan pewarnaan gram untuk dapat mengidentifikasi bakteri tersebut termasuk ke dalam gram positif ataupun gram negatif.

Hasil identifikasi isolasi dan seleksi bakteri pendegradasi minyak dari pertambangan minyak bumi Wonocolo disajikan pada Tabel 4.3 berikut:

Tabel 4.3. Pengamatan Makroskopis Koloni Bakteri

No.	Isolat	Warna koloni	Bentuk Koloni	Tepian Koloni	Permukaan Koloni
1.	Isolat 1.6	Putih kekuningan	Tidak beraturan	Berombak/ berlekuk	Timbul datar
2.	Isolat 2.3	Putih	Bulat	Berombak/ berlekuk	Timbul datar

Tabel 4.3. menunjukkan bahwa isolat 1.6 memiliki koloni berwarna putih kekuningan, memiliki bentuk tidak beraturan (*irregular*), tepian koloninya berombak/berlekuk (*lobate*), dan memiliki permukaan

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

koloni yang timbul datar (*raised*). Isolat 2.3 memiliki koloni berwarna putih, memiliki bentuk koloni bulat (*regular*), tepian koloni berombak/berlekuk (*lobate*), serta memiliki permukaan timbul datar.

Selain pengamatan morfologi koloni bakteri secara makroskopis, pada penelitian ini dilakukan pula pengamatan bentuk sel bakteri melalui pewarnaan gram terhadap koloni bakteri hasil isolasi dan seleksi bakteri hidrokarbon. Tujuan dilakukannya pewarnaan gram terhadap bakteri adalah untuk menentukan karakteristik isolat bakteri berdasarkan komponen dinding sel suatu bakteri antara bakteri gram positif atau bakteri gram negatif. Selain itu dari pewarnaan gram, dapat dilakukan pula untuk mengamati bentuk sel bakteri.

Pewarnaan gram dapat digunakan untuk melihat kemurniaan suatu isolat bakteri yang telah diisolasi hingga tingkat sel. Pewarnaan gram dilakukan dengan menggunakan isolat bakteri yang berumur 24 − 48 jam (Andina, 2014). Biakan bakteri yang baru akan mengurangi terjadinya penyimpangan pada pewarnaan Gram karena pada biakan yang melebihi 48 jam, banyak sel yang mengalami kerusakan pada dinding sel nya sehingga bakteri Gram positif tidak dapat lagi mempertahankan kompleks warna kristal violet-iodium lugol sehingga akan terlihat menjadi Gram negatif (Waluyo, 2010).

Hasil uji pewarnaan gram pada bakteri dan pengamatan bentuk sel bakteri disajikan pada tabel 4.4 dibawah ini.

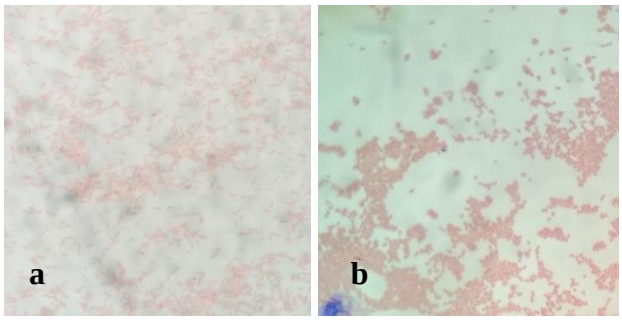
digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Tabel 4.4. Pengamatan Mikroskopis Koloni Bakteri

No.		Pengamatan	
		Pewarnaan gram	Bentuk sel
1.	Isolat 1.6	Negatif (−)	*Monobasil*
2.	Isolat 2.3	Negatif (−)	*Diplococcus*

Berdasarkan tabel 4.4 di atas, menunjukkan bahwa isolat 1.6 dan isolat 2.3 tergolong bakteri bakteri gram negatif, karena pada saat dilakukan pewarnaan dinding sel bakteri, sel bakteri terlihat berwarna merah muda saat diamati dibawah mikroskop. Hal tersebut dikarenakan kompleks kristal violet dan iodin mudah lolos melalui lapisan lipopolisakarida dan peptidoglikan yang tipis ketika diperlakukan dengan pelarut. Ketika diwarnai dengan safranin, pewarna tersebut dapat diserap oleh dinding sel bakteri gram negatif. Sehingga bakteri gram negatif terlihat berwarna merah muda ketika diamati dibawah mikroskop. Hasil pewarnaan gram pada isolat 1.6 dapat dilihat pada gambar 4.5. a, dan 4.5 b pada isolat 2.3.

Bakteri gram negatif tersusun atas peptidoglikan yang tipis yang diselubungi oleh lapisan tipis yang terdiri dari lipopolisakarida. Daerah antara peptidoglikan dan lapisan lipopolisakarida disebut *periplasmic space* yang hanya ditemui pada jenis bakteri gram negatif.



Gambar 4.5 Pengamatan Mikroskopis Isolat Bakteri Hasil Seleksi
Sumber : Data primer penelitian, 2020.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Berdasarkan gambar tabel 4.5 di atas, isolat bakteri 1.6 memiliki bentuk sel monobasil. Pengamatan bentuk sel bakteri dapat dilakukan dengan cara pewarnaan gram, kemudian di amati dibawah mikroskop. Hasil pengamatan bentuk sel bakteri isolat 1.6 dapat dilihat pada gambar 4.5 a. Sedangkan isolat 2.3 memiliki bentuk sel *diplococcus*, yaitu berbentuk bulat dan bergandengan 2 sel bakteri.

Identifikasi bakteri dapat dilihat dari perbedaan koloni bakteri yang tumbuh. Menurut Fitri dan Yasmin (2011), pengamatan karakteristik morfologi koloni bakteri akan mempermudah dalam mengidentifikasi bakteri. Koloni bakteri yang berbeda menunjukkan jenis bakteri yang berbeda. Setelah koloni bakteri tumbuh terlihat jelas perbedaan antara isolat 1.6 dan 2.3. Isolat 1.6 memiliki permukan yang buram dan tidak berlendir. Menurut Hatmanti (2001), *Bacillus* sp. memiliki bentuk koloni yang bermacam-macam pada medium Nutrien Agar. Umumnya memiliki warna koloni putih hingga kekuningan atau putih suram, tepian koloni berbeda-beda, uumumnya tidak rata, dan koloni tidak berlendir. Ciri-ciri maksroskopis koloni isolat 1.6 memiliki kemiripan dengan ciri-ciri makroskopis koloni bakteri *Bacillus* sp. Isolat bakteri 2.3 juga memilki ciri koloni mirip bakteri Genus *Bacillus.* Yaitu memiliki ciri-ciri warna koloni berwarna putih, permukaan koloni timbul datar, bentuk sel *diplococcus*. Berdasarkan penelitian Nurjanah (2018), dalam penelitiannya yaitu isolasi bakteri pendegradasi hidrokarbon di perairan Tanjung Perak, melaporkan bahwa telah ditemukan bakteri *Genus Bacillus* dengan ciri-ciri warna koloni putih, bentuk koloni bulat, permukaan koloni timbul datar, dan bentuk sel

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

diplococcus. Hal ini memiliki kemiripan dengan ciri-ciri isolat bakteri 2.3 yaitu diduga tergolong *Genus Bacillus*.

Bakteri genus *Bacillus* merupakan salah satu jenis bakteri yang sering digunakan dalam bidang bioteknologi. Beberapa penelitian tentang bioremediasi sering digunakan isolat bakteri *Bacillus.* Pada penelitian Nugroho, (2007) menggunakan lima jenis bakteri *Bacillus* yaitu *Bacillus badius*, *B. circulans*, *B. coagulans*, *B. firmus*, *B.epiphitus*. Bakteri *Bacillus* juga dapat digunakan bersimbiosis dengan rumput. Penelitian Pertiwi *et al*. (2011), memanfaatkan rumput *Fimbrisylis sp.* dalam bioremediasi yang menggunakan lima isolat *Bacillus* yaitu *Bacillus sphaericus*, *B. spharicus* var. rotans, *B. megaterium*, *B. mycoides*, *B. cereus* var. albolatis. Sementara bakteri dengan genus *Vibrio* juga ditemukan sebagai bakteri pendegradasi minyak bumi pada penelitian Widjaja dan Sunarko (2007).

Selain bakteri genus *Bacillus*, genus bakteri lain juga sering diisolasi dari lokasi tercemar minyak bumi. Bakteri tersebut yaitu bakteri dengan *Genus Pseudomonas.* Bakteri *Pseudomonas* juga mampu mendegradasi hidrokarbon dan digunakan dalam bioremediasi (Gofar, 2012).

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

BAB V

PENUTUP

5.1. Simpulan

Berdasarkan pembahasan yang telah diuraikan diatas, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Didapatkan dua isolat yang diduga bakteri indigen pendegradasi hidrokarbon minyak bumi di lokasi tambang minyak Wonocolo, yaitu isolat 1.6 (berasal dari area pengangkutan) dan isolat 2.3 (berasal dari area pengeboran).
2. Ciri-ciri isolat bakteri 1.6 yaitu: memiliki koloni berwarna putih kekuningan, memiliki bentuk tidak beraturan (*irregular*), tepian koloninya berombak/berlekuk (*lobate*), memiliki permukaan koloni yang timbul datar (*raised*), bentuk sel *monobacil*, serta tergolong bakteri gram negatif. Sedangkan Isolat 2.3 memiliki koloni berwarna putih, memiliki bentuk koloni bulat (*regular*), tepian koloni berombak/berlekuk (*lobate*), memiliki permukaan timbul datar, bentuk sel *diplococcus*, serta tergolong bakteri gram negatif.

5.2. Saran

Berdasarkan kesimpulan yang telah diuraikan diatas, maka saran untuk penelitian selanjutnya adalah:

1. Dapat melakukan penelitian uji TPH (Total Petrolium Hidrokarbon) pada masing-masing ataupun kombinasi antar isolat bakteri

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

pendegradasi hidrokarbon yang telah didapatkan di lokasi tambang minyak Wonocolo.

2. Bagi peneliti selanjutnya dapat melakukan uji bioremediasi menggunakan isolat bakteri indigen pendegradasi hidrokarbon tersebut dengan teknik-teknik bioremediasi tertentu, baik dalam skala laboratorium maupun secara langsung di lapangan (lahan di tambang minyak Wonocolo).

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

DAFTAR PUSTAKA

Alexander, Steve L. Strete, D. Niles, M.J .2004. *Laboratory Exercise In Organismal and molekuler Microbiology*. New York : The Mc. Graw Hill.

Andina, Fika. 2014. Biodegradasi Total Petroleum Hydrocarbon (TPH) dengan Bakteri Penghasil Biosurfaktan Asal Air Laut dan Sedimen Pantai Karangsong Kabupaten Indramayu Jawa Barat. *Skripsi*. Universitas Padjadjaran Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Program Studi Ilmu Kelautan Jatinangor.

Barakwan, Rizkiy. 2017. Penyisihan Hidrokarbon pada Tanah Tercemar Crude Oil di Pertambangan Minyak Bumi Rakyat Wonocolo, Bojonegoro dengan Metode Co-Composting Aerobik. *Skripsi.* Fakultas Teknik Sipil Dan Perencanaan, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.

Branan, C. 2002. *Rule of Thumb for Chemical Engineer*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.

Cao, B., Nagarajan, K., dan Loh, K.C. 2009. Biodegradation of Aromatic Compounds: Current Status and Opportunities for Biomolecular Approaches, *Applied Microbiology and Biotechnology* 85.(2): 207-228.

Cappucino, JG dan Sherman N. 2014. *Manual Laboratorium Mikrobiologi edisi 8*. EGC, Jakarta.

Doyle, E., Muckian, L., Hickey, A.M., dan Clipson, N. 2008. Microbial PAH Degradation, *Advances in Applied Microbiology*. (65): 27-66.

Fitri, L. dan Yasmin, Y. 2011. Isolasi dan pengamatan morfologi bakteri kitinolitik. *J. Ilmiah Pendidikan Biologi* 3 (2) : 20-25.

Gofar, N. 2011. Characterization of Petroleum Hidrokarbon Decomposing Fungi Isolated from Mangrove Rhizosphere. *J. Trop soils.* 16 (1) : 39-45.

Gofar, N. 2012. Aplikasi Isolat Bakteri Hidrokarbonoklastik asal Rizosfer Mangrove pada Tanah Tercemar Minyak Bumi. *Jurnal Lahan Suboptimal.* (2): 123–129.

Hadestyariki, D., Yudono, B., dan Munawar. 2013. Eksplorasi bakteri Hidrokarbonoklastik dari rhizosfer di lahan tambang minyak rakyat Kecamatan Babat Toman Sumatera Selatan. *JPS MIPA Unsri.* 16 (8) : 78-85.

Hajar,Dachniar.2012. Isolasi, Identifikasi dan Analisis Kemampuan Degradasi

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Hidrokarbon Bakteri Tanah Sampel B, Cilegon, Banten. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Departemen Biologi.Universitas Indonesia, Depok.

Handrianto, P., Rahayu, S. Y., dan Yuliani. 2012. Teknologi Bioremediasi dalam Mengatasi Tanah Tercemar Hidrokarbon. *Prosiding Seminar Nasional Kimia Unesa 2012*. Universitas Negeri Surabaya, Surabaya.

Haripriyatna, Riky. 2016. Isolasi dan Seleksi bakteri Indigen Pendegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi. *Skripsi*. Universitas Sriwijaya, Indralaya.

Hedar, Yusran, Budiyono. 2018. Pengaruh Kegiatan Penambangan Tradisional Minyak Bumi pada Sumur Tua Terhadap Kualitas Air Sungai (Studi Kasus Penambangan Tradisioanl Minyak Bumi di Desa WOnocolo Kecamatan Kedewan Kabupaten Bojonegoro). *Thesis*. Universitas Diponegoro, Semarang.

Husen, E. 2007. *Metode Analisis Biologi Tanah*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Lahan Pertanian, Bogor.

Jain, P.K, Gupta, V.K, Gaur, R.K., Lowry, M., Jaroly, D.P., & Chauhan, U.K. 2011. Bioremediation of Petroleum Oil Contaminated Soil and Water. *Research Journal of Environment Toxicology*. (1): 1-26.

Jing W, Z Zhang, Y Su, W He F He, H Song. 2008. Phytoremediation of Petroleum Polluted Soil. *Petroleum Science*. (5): 167-171.

Kasmidjo, R.B., 1990. Mikrobiologi dan Kimia Pengolahan serta Pemanfaatanya. PAU Pangan dan Gizi UGM, Yogyakarta.

Kompas. 2018. *Produksi Minyak RI*. Kompas.com, Jakarta.

Kurniawan,Allen, Wirasembada,Yanuar, C, Razaad,Indah, Novriansyah, Rafi, Effendi. 2018. Hidrokarbon Aromatik Polisiklik pada Lahan Tercemar Limbah Minyak Bumi: Tinjauan Pertumbuhan Mikro-Organisme, Proses Metabolisme dan Biodegradasi. *Jurnal Ilmu Lingkungan*. (16):9-24.

Li, J.L., dan Chen, B.H. 2009. Surfactant-mediated Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, *Materials* 2. (1): 76–94.

Liang, Y., Tse, M.F., Young, L., & Wong, M.H., 2007, Distribution Patterns of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in The Sediments and Fish at Mai Po Marshes Nature Reserve, Hong Kong, *Water Research*. (6): 1303–1311.

Lors, C., Ryngaert, A., Perie, F., Diels, L., dan Damidot, D. 2010. Evolution of Bacterial Community During Bioremediation of PAHs in a Coal Tar Contaminated Soil, *Chemosphere* 81. (10): 1263-1271.

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Mangkoediharjo, S. 2005. Seleksi Teknologi Pemulihan untuk Ekosistem Laut Tercemar Minyak. *Seminar Nasional Teori dan Aplikasi Teknologi Kelautan ITS*, Surabaya.

Millioli, V.S., Servulo, E-L.C., Sobral, L.G.S., & Carvalho, D.D.DE. 2009. Bioremediation of Crude Oil-bearing Soil: Evaluating the Effect of Rhamnolipid Addition to Soil Toxicity and to Crude Oil Biodegradation Efficiency. *Global NEST Journal*. 11(2): 181-188.

Mukhtasor. 2006. *Pencemaran Pesisir dan Laut*. PT Paradnya Paramita, Jakarta.

Mulyanto, Adi. 1, 2018,Pengolahan dan Pemanfaatan Air Limbah Industri Biodiesel. J*urnal Rekayasa Lingkungan.* (5).

Munawar,S.P. Estuningsih, B. Yudono, M.Said, Salni. 2008. *Studi Penggunaan Bakteri Indigen Petrofilik dalam Proses Bioremediasi Minyak Bumi di Wilayah Sumatera Bagian Selatan.* Makalah seminar PIT-PERMI, Purwokerto.

Munawar, A. 2012. *Monograf Tinjauan Proses Bioremediasi Melalui Pengujian Tanah Tercemar Minyak.* UPN Press, Surabaya.

Munir, E. 2006. Pemanfaatan Mikroba dalam Bioremediasi Suatu Teknologi Alternatif untuk Pelestarian Lingkungan. *Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar Tetap dalam Bidang Mikrobiologi.* Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam USU, Medan.

Nababan, B. 2008. Isolasi dan Uji Potensi Bakteri Pendegradasi Minyak Solar dari Laut Belawan. *Tesis*. Program Studi Biologi. USU, Medan.

Naumi, R. N. dan Trilaksana, A. 2015. Pertambangan Minyak Tradisional di Desa Wonocolo, Kecamatan Kedewan, Kabupaten Bojonegoro Tahun 1970-1987. *Jurnal Pendidikan Sejarah.*. 3 (1): 135-146.

Nieto, E.R., dan Machuca, J.A.P.V. 2012. Microbial Degradation of PAHs: Organisms and Environmental Compartments, dalam Singh, S.N. (ed.), *Microbial Degradation of Xenobiotics* : 263-290.

Nugroho, A. 2006. Biodegradasi Sludge Minyak Bumi Dalam Skala Mikrokosmos : Simulasi Sederhana Sebagai Kajian Awal Bioremediasi *Land Treatment*. *Makara Teknologi*. 10 (2): 82-89.

Nugroho, A. 2007. Dinamika Populasi Konsorsium Bakteri Hidrokarbonoklastik : Studi Kasus Biodegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi Skala Laboratorium. *Jurnal Ilmu Dasar.* (1): 13-23.

Nurjanah, I. 2018. Uji Potensi Bakteri Pendegradasi Minyak Solar di Perairan

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

Pelabuhan Tanjung Perak Surabaya. *Skripsi*. UIN Sunan Ampel, Surabaya.

Nusyirwani dan Amolle, K. C. 2007. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Hidrokarbonoklastik dari Perairan Dumai Dengan Sekuen 16s rDNA. *Jurnal Ilmu Kelautan*. (1): 12-17.

Pelczar, M.J. & E.C.S. Chan. 1986. Penterjemah, Ratna Siri Hadioetomo. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 1*, Universitas Indonesia Press, Jakarta.

Pelczar, Michael J. ESC. Chan. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. UI Press, Jakarta.

Purwoko, T. 2007. *Fisiologi Mikroba*. Bumi Aksara, Jakarta.

Rachmawani, D., Yulianda, F., Kusmana, C., Boer, M., dan Parwati, E., 2016. Study of Mangroves Ecosystem Management at Binalatung in Tarakan City of North Kalimantan. *Int. J. Sci*. 26 (3): 221-234.

Rahayu, Y. S., Yuliani and Trimulyono, G. 2019. Identification of Hydrocarbon Degradation Bacteria and Phosphate Solubilizing Bacteria in Oil Contaminated Soil in Bojonegoro, East Java, Indonesia. *Indonesia Journal of Science and Technology*. 4(1): 134–147.

Shihab, Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an*. Lentera Hati Press, Jakarta.

Silvia, S. dan J. Jusfah. 2010. *Biodegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi Menggunaan Isolat Bakteri dari Limbah Minyak Bumi PT Cevron Pacific Indonesia*. Universitas Andalas, Padang.

Siregar, Sri Rahmawaty .2009. Isolasi dan Uji Potensi Khamir Pendegradasi Minyak Solar dari Air Laut Belawan. *Tesis*. Pascasarjana Universitas Sumatera Utara, Medan.

Waluyo, L. 2010. *Teknik Metode Dasar Mikrobiologi*. Umm Press, Malang.

Wang, Z., Xu, Y., Zhao, J., Li, F., Gao, D., dan Xing, B. 2011. Remediation of Petroleum Contaminated Soil Through Composting and Rizosphere Degradation. *Journal of Hazardous Materials*. (190):677-685.

Widjaja, T dan Sunarko L. 2007. Pengaruh Perbandingan Nutrisi Terhadap Pengolahan Minyak Secara Biologis dengan Bakteri *Mixed-Culture*. *J Teknik Kimia Indonesia*. 6 (2) : 755-762.

Widjayanti H, I Anas, N Gofar and MR Ridho. 2010. *Screening of Petroleum Hydrocarbons Degrading Bacteria as a Bioremediating Agents from Mangrove Areas*. Proceeding of International Seminar, Workshop On Integrated Lowland Development And Management. ISBN no. 978-979-

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id

25-8652-7.

Yani, Mohamad, Akbar, Yusuf. 2009. Proses Biodegradasi Minyak Diesel oleh Campuran Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon. *J. Tek. Ind. Pert.* Vol. 19(1): 40-44.

Yudono, B., Estuningsih, S.P., Said, M., Sabaruddin, dan Napoleon, A. 2013. Eksplorasi bakteria indigen pendgradasi limbah minyak bumi di wilayah PT Pertamina UBEP Limau Muara Enim. Bambang Y. (Ed). *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung 2013*, Lampung.

Yulaikah, L. 2007. Bioremediasi Lahan Tercemar Hidrokarbon Minyak Bumi Secara Biopile. *Skripsi*. UPN Veteran Jawa Timur, Surabaya.

Zam, S. I. 2011. Biodegradasi Tanah yang Tercemar. Biodegradasi Tanah yang Tercemar Limbah Pengilangan Minyak Bumi Secara *In Vitro* pada Konsentrasi pH yang Berbeda. *Jurnal Agroteknologi*. (2):1-8

digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id digilib.uinsby.ac.id