

**SKRINING BAKTERI HIDROKARBONOKLASTIK DARI RHIZOSFER
LAMUN SEBAGAI POTENSI PENDEGRADASI MINYAK SOLAR**

SKRIPSI



**UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A**

Disusun Oleh:

YUFINCA MELLYAFARA INDRA KUMALA

NIM: H04218012

**PROGRAM STUDI ILMU KELAUTAN
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN AMPEL
SURABAYA**

2022

PERNYATAAN KEASLIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Yufinca Mellyafara Indra Kumala

NIM : H04218012

Program Studi : Ilmu Kelautan

Angkatan : 2018

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul: "SKRINING BAKTERI HIDROKARBONOKLASTIK DARI RHIZOSFER LAMUN SEBAGAI POTENSI PENDEGRADASI MINYAK SOLAR". Apabila suatu saat nanti terbukti saya melakukan tindakan plagiasi, maka saya bersedia menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian pernyataan keaslian ini saya buat dengan sebenar-benarnya

Surabaya, 27 Oktober 2022

Yang menyatakan,



(Yufinca Mellyafara I.K.)

NIM. H04218012

LEMBAR PERSETUJUAN PEMBIMBING

Skripsi oleh

NAMA : YUFINCA MELLYAFARA INDRA KUMALA

NIM : H04218012

JUDUL : SKRINING BAKTERI HIDROKARBONOKLASTIK DARI
RHIZOSFER LAMUN SEBAGAI POTENSI PENDEGRADASI
MINYAK SOLAR

Ini telah diperiksa dan disetujui untuk diujikan.

Surabaya, 10 Oktober 2022

Dosen Pembimbing 1



Mauludiyah, S.T., M.T.
NUP 201409003

Dosen Pembimbing 2



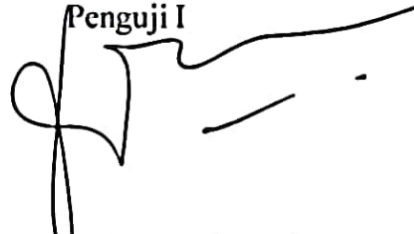
Abdul Halim, S.Ag., M.H.I.
NIP 197012082006041001

PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI

Skripsi Yufinca Mellyafara Indra Kumala ini telah dipertahankan
di depan tim penguji skripsi
di Surabaya, 27 Oktober 2022

Mengesahkan,
Dewan Penguji

Penguji I



(Mauludiyah, S.T., M.T.)

NUP. 201409003

Penguji II



(Abdul Halim, S.Ag., M.HI.)

NIP. 197012082006041001

Penguji III



(Wiga Alif Violando, M.P.)

NIP. 199203392019031012

Penguji IV



(Rizqi Abdi Perdanawati, M.T.)

NIP. 19880926201432002

Mengetahui,

Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

UIN Sunan Ampel Surabaya



(Abdul Hamdani, M.Pd.)

NIP. 196507312000031002



UIN SUNAN AMPEL
SURABAYA

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 : Yufinca Mellyafara Indra Kumala
NIM : H04218012
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi / Ilmu Kelautan
E-mail address : yufincamell@gmail.com

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

Skripsi Tesis Desertasi Lain-lain (.....)
yang berjudul :

SKRINING BAKTERI HIDROKARBONOKLASTIK DARI RHIZOSFER LAMUN

SEBAGAI POTENSI PENDEGRADASI MINYAK SOLAR

beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan Hak Bebas Royalti Non-Eksklusif 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, 01 September 2023

Penulis

(Yufinca Mellyafara Indra K.)

ABSTRAK

SKRINING BAKTERI HIDROKARBONOKLASTIK DARI RHIZOSFER LAMUN SEBAGAI POTENSI PENDEGRADASI MINYAK SOLAR

Keberadaan bakteri diketahui melimpah pada lapisan tanah bagian rhizosfer jika dibandingkan dengan lingkungan lainnya (non rhizosfer), Tumbuhan lamun akan mengeluarkan senyawa organik dan enzim melalui akar yang menyebabkan lingkungan rhizosfer lamun menjadi lingkungan ideal bagi bakteri untuk dapat tumbuh. Kondisi ekosistem padang lamun di Indonesia mengalami ancaman kerusakan dan penurunan luasan akibat berbagai tekanan lingkungan diantaranya pencemaran minyak di laut. Penanggulangan cemaran minyak pada lingkungan perairan dapat dilakukan dengan berbagai macam cara, dan bioremediasi merupakan teknik yang paling sering digunakan untuk mengatasi pencemaran minyak dengan memanfaatkan aktivitas bakteri hidrokarbonoklastik. Tujuan penelitian ini yaitu untuk memperoleh isolat bakteri hidrokarbonoklastik dari rhizosfer lamun dan mengetahui kemampuan masing-masing isolat bakteri dalam mendegradasi minyak solar. Sampel yang digunakan berupa tanah lapisan rhizosfer dari tumbuhan lamun di perairan Desa Tunggul, Lamongan. Bakteri hidrokarbonoklastik diisolasi menggunakan media Bushnell Haas Media Salt (BHMS) dan hidrokarbon jenis minyak solar sebelum diuji kemampuannya dalam mendegradasi minyak solar. Uji kemampuan degradasi minyak meliputi uji pertumbuhan bakteri dan persentase kemampuan degradasi menggunakan metode gravimetri. Hasil penelitian menunjukkan terdapat lima isolat bakteri hidrokarbonoklastik yang diperoleh yaitu *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter*, dan *Sporosarcina*. Kemampuan degradasi minyak solar tertinggi dimiliki oleh bakteri *Pseudomonas* yang dapat mendegradasi minyak solar hingga 90% dan *Bacillus* sebesar 86%.

Kata kunci: rhizosfer lamun, bakteri hidrokarbonoklastik, solar

ABSTRACT

SCREENING OF HYDROCARBONOCLASTIC BACTERIA FROM SEAGRASS RHIZOSPHERE AS A DIESEL OIL DEGRADATION POTENTIAL

The presence of bacteria is known to be abundant in the rhizosphere when compared to other (non rhizosphere). Seagrass will release organic compounds and enzymes through the roots, causing the seagrass rhizosphere environment to be an ideal environment for bacteria to grow. The condition of Indonesia seagrass ecosystem is under threat of damage and decrease in area due to various environmental pressures, including oil pollution in the sea. Overcoming oil contamination in the sea can be done in various ways, and bioremediation is the technique most often used to overcome oil pollution by utilizing the activity of hydrocarbonoclastic bacteria. The purpose of this study was to obtain isolates of hydrocarbonoclastic bacteria from seagrass rhizosphere and to determine the ability of each bacterial isolate to degrade diesel oil. The sample used in the form of rhizosphere soil layer from seagrass in sea of Tunggul Village, Lamongan. Hydrocarbonoclastic bacteria were isolated using Bushnell Haas Media Salt (BHMS) and hydrocarbon which type is diesel oil, before being tested for their ability to degrade diesel oil. The oil degradation ability test includes bacterial growth test and the percentage of degradation ability using the gravimetric method. The results obtained five isolates of hydrocarbonoclastics bacteria: Klebsiella, Pseudomonas, Bacillus, Enterobacter, and Sporosarcina. The highest diesel oil degradation ability is owned by Pseudomonas as 90% and Bacillus as 86%.

Keyword: seagrass rhizosphere, hydrocarbonoclastic bacteria, diesel oil

UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

DAFTAR ISI

LEMBAR PERSETUJUAN PEMBIMBING	iii
PENGESAHAN TIM PENGUJI SKRIPSI.....	iv
PERNYATAAN KEASLIAN.....	v
PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI	vi
KATA PENGANTAR	vii
ABSTRAK	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.5 Batasan Masalah.....	4
BAB II.....	5
TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Ekosistem Lamun	5
2.1.1 Fungsi Lamun	7
2.1.2 Rhizosfer Lamun.....	8
2.2 Minyak Solar	9
2.3 Bioremediasi.....	10
2.4 Bakteri	12
2.4.1 Fase Pertumbuhan Bakteri	12
2.4.2 Bakteri Hidrokarbonoklastik.....	13
2.5 Integrasi Keilmuan	15

2.6	Penelitian Terdahulu.....	17
BAB III		20
METODOLOGI PENELITIAN.....		20
3.1	Waktu dan Tempat Penelitian	20
3.2	Prosedur Kerja	20
3.2.1	Pengambilan Sampel Rhizosfer	20
3.2.2	Pengkayaan Bakteri.....	22
3.2.3	Isolasi dan Pemurnian Bakteri	22
3.2.4	Identifikasi Isolat Bakteri Hidrokarbonoklastik.....	23
3.2.5	Uji Pendugaan Hemolisis Blood Agar	25
3.2.6	Uji Kemampuan Mendegradasi Minyak Solar.....	25
BAB IV		29
HASIL DAN PEMBAHASAN.....		29
4.1	Pengayaan dan Isolasi Bakteri dari Rizosfer Lamun Desa Tunggul	29
4.2	Identifikasi Isolat Bakteri Hidrokarbonoklastik	33
4.3	Uji Pendugaan Hemolisis	41
4.4	Uji Kemampuan Degradasi Minyak Solar	44
4.4.1	Pengamatan Visual, Perubahan pH, Media dan Minyak.....	44
4.4.2	Pertumbuhan Bakteri pada Media.....	51
4.4.3	Biodegradasi Minyak Solar.....	59
4.5	Bakteri Hidrokarbonoklastik dalam Persepektif Al-Qur'an dan Hadits	70
BAB V.....		75
PENUTUP.....		75
5.1	Kesimpulan.....	75
5.2	Saran.....	75
DAFTAR PUSTAKA		77
LAMPIRAN.....		84

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Tumbuhan Lamun	5
Gambar 3.1 Lokasi Pengambilan Sampel Rhizosfer Lamun	21
Gambar 4.1 Hasil Inkubasi/Pengocokan Sampel Rhizosfer pada Media.....	30
Gambar 4.2 Hasil Isolasi pada Media BHMS (kiri) dan NA (kanan).....	32
Gambar 4.3 Kurva Pertumbuhan Bakteri Klebsiella.....	53
Gambar 4.4 Kurva Pertumbuhan Bakteri Pseudomonas.....	54
Gambar 4.5 Kurva Pertumbuhan Bakteri Bacillus.....	56
Gambar 4. 6 Kurva Pertumbuhan Bakteri Enterobacter	57
Gambar 4.7 Kurva Pertumbuhan Bakteri Sporosarcina.....	58
Gambar 4.8 Grafik Kadar Sisa Minyak Solar Hasil Degradasi oleh Bakteri.....	60
Gambar 4.9 Grafik Presentase Biodegradasi Minyak Solar.....	61
Gambar 4.10 Grafik Kadar Sisa Minyak Solar (atas) dan Presentase Kemampuan (bawah) Bakteri Klebsiella dalam Proses Biodegradasi	62
Gambar 4.11 Grafik Kadar Sisa Minyak Solar (atas) dan Presentase Kemampuan (bawah) Bakteri Pseudomonas dalam Proses Biodegradasi.....	64
Gambar 4.12 Grafik Kadar Sisa Minyak Solar (atas) dan Presentase Kemampuan (bawah) Bakteri Bacillus dalam Proses Biodegradasi	66
Gambar 4.13 Grafik Kadar Sisa Minyak Solar (atas) dan Presentase Kemampuan (bawah) Bakteri Enterobacter dalam Proses Biodegradasi	68
Gambar 4. 14 Grafik Kadar Sisa Minyak Solar (atas) dan Presentase Kemampuan (bawah) Bakteri Sporosarcina dalam Proses Biodegradasi.....	69

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Jenis Lamun yang Ditemukan di Indonesia	6
Tabel 2. 2 Beberapa Contoh Jenis Bakteri Hidrokarbonoklastik.....	14
Tabel 2. 3 Penelitian Terdahulu Mengenai Bakteri Pendegradasi Minyak.....	17
Tabel 3.1 Referensi Identifikasi Morfologi Koloni Bakteri.....	23
Tabel 4.1 Isolat Murni Bakteri Pendegradasi Minyak dari Rhizosfer Lamun	33
Tabel 4.2 Hasil Identifikasi Isolat Bakteri Secara Makroskopis.....	34
Tabel 4.3 Hasil Pewarnaan Gram Isolat Bakteri Pendegradasi Minyak Solar.....	35
Tabel 4.4 Hasil Uji Hemolisis pada Media Blood Agar	42
Tabel 4.5 Hasil Biodegradasi Minyak Solar oleh Bakteri Klebsiella Secara Visual	45
Tabel 4.6 Hasil Biodegradasi Minyak Solar oleh Bakteri Pseudomonas Secara Visual	46
Tabel 4. 7 Hasil Biodegradasi Minyak Solar oleh Bakteri Bacillus Secara Visual	47
Tabel 4.8 Hasil Biodegradasi Minyak Solar oleh Bakteri Enterobacter Secara Visual	48
Tabel 4.9 Hasil Biodegradasi Minyak Solar oleh Bakteri Sporosarcina Secara Visual	49

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi Penelitian	84
Lampiran 2. Spesifikasi Solar yang Digunakan	86
Lampiran 3. Pengamatan Visual Degradasi Minyak oleh Bakteri Klebsiella	87
Lampiran 4. Pengamatan Visual Degradasi Minyak oleh Bakteri Pseudomonas	88
Lampiran 5. Pengamatan Visual Degradasi Minyak oleh Bakteri Bacillus	89
Lampiran 6. Pengamatan Visual Degradasi Minyak oleh Bakteri Enterobacter	90
Lampiran 7. Pengamatan Visual Degradasi Minyak oleh Bakteri Sporosarcina	91

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Lamun (*seagrass*) atau dapat disebut dengan ilalang laut merupakan kelompok tumbuhan yang memiliki bunga (*Angiospermae*), akar, batang, daun sejati, dapat beradaptasi untuk tinggal terbenam di dalam air dan di perairan dengan fluktuasi salinitas tinggi. Terdapat dua jenis padang lamun berdasarkan vegetasinya, yaitu padang lamun dengan vegetasi tunggal yang tersusun hanya dari satu jenis lamun yang tumbuh bersama pada substrat yang sama dan vegetasi campuran yaitu terdiri atas dua hingga 12 jenis lamun yang dapat tumbuh dalam satu substrat (Sakey, *et al.*, 2015). Padang lamun memiliki peran yang sangat produktif bagi biota yang tinggal di sekitarnya sebagai naungan dan habitatnya, tetapi rentan akan perubahan yang terjadi di perairan. Tingginya penurunan luasan dan rusaknya ekosistem lamun di dunia sejalan dengan tingkat tekanan lingkungan yang tercipta secara alami atau dampak aktivitas manusia (Riniatsih & Endrawati, 2013) dengan tujuan peningkatan ekonomi yang menyebabkan banyaknya pergolakan yang terjadi di permukaan air sehingga menimbulkan pencemaran (Husain, *et al.*, 2022).

Hampir diseluruh pesisir Indonesia, masalah kerusakan lingkungan hidup dan pencemaran laut disebabkan oleh buangan limbah berbahaya dan pencemaran minyak (Fattah & Rosul, 2019). Pencemaran minyak di laut dapat disebabkan karena tumpahan minyak dari kebocoran tanker, kecelakaan maupun pencucian kapal (Nababan, 2008) serta ulah manusia yang membuang minyak dari kapal ke laut hingga melakukan pengeboran minyak di laut lepas. Tumpahnya minyak pada lautan berdampak pada berkurangnya penetrasi cahaya ke dalam perairan dan menurunnya konsentrasi oksigen sehingga biota yang tinggal pada perairan tersebut akan terganggu kehidupannya (Rahmayanti, 2006).

Penanggulangan tumpahan minyak solar yang mengandung hidrokarbon berbahaya bagi lingkungan laut dapat melalui proses fisika yaitu dengan metode penyaringan, menggunakan pelarut, hingga agen-agen kimia, atau secara biologis yaitu dengan memanfaatkan aktivitas mikroba. Penanggulangan minyak secara biologis atau dengan biodegradasi merupakan langkah yang terbaik dari proses lainnya (Nababan, 2008). Bioremediasi telah dipilih sebagai metode utama dalam memanfaatkan biodegradasi dari mikroba alami untuk dapat memulihkan lingkungan yang mengalami pencemaran (Atlas, 1991).

Pemanfaatan mikroba dalam perbaikan lingkungan perlu dipelajari sebagaimana dijelaskan dalam Q.S Al-Alaq ayat 1:

اقْرَأْ بِاسْمِ رَبِّكَ الَّذِي خَلَقَ

Artinya: “*Bacalah dengan (menyebut) Nama Tuhanmu yang menciptakan*”

Arti kata ‘bacalah’ pada ayat ini tidak disebutkan objek yang dituju. Hal tersebut berarti segalanya dapat dibaca, bukan hanya tulisan melainkan seluruh objek yang telah Allah SWT ciptakan, salah satunya yaitu bakteri. Membaca sama halnya dengan mengamati, menafsirkan, meneliti, dan sejenisnya sehingga kita bisa membaca dan mencari tahu ilmu mengenai kehadiran bakteri yang telah Allah SWT ciptakan untuk dapat digunakan sebagai agen bioremediasi agar bermanfaat bagi manusia.

Bioremediasi cemaran minyak dapat dilakukan menggunakan bakteri yang disebut dengan bakteri hidrokarbonoklastik (Nababan, 2008). Bakteri hidrokarbonoklastik mampu mendegradasi minyak solar karena menghasilkan enzim yang dapat memecah senyawa organik kompleks pada minyak solar menjadi senyawa yang lebih sederhana. Bakteri hidrokarbonoklastik ditemukan efektif dalam mendegradasi polutan terutama pada daerah rhizosfer yang tercemar. Rhizosfer memiliki kemampuan dalam meningkatkan populasi dan aktivitas enzimatik bakteri. Mikroba akan tumbuh dua kali lebih banyak pada perakaran (Hardestyariki, *et al.*, 2013).

Melalui akar, tumbuhan mengeluarkan suatu senyawa organik dan enzim atau biasa disebut dengan eksudat akar. Senyawa tersebut dimanfaatkan mikroba dalam pertumbuhannya, sehingga rhizosfer merupakan daerah yang paling baik bagi pertumbuhan mikroba pada tanah. Rhizosfer lamun memiliki kondisi lingkungan mikro yang dinamis dimana lingkungan ini membentuk suatu habitat bagi komunitas mikroba yang berbeda (Brodersen, et al., 2018). Penelitian Zhang *et al.* (2020) membuktikan bahwa mikroba rhizosfer lamun memiliki peran yang penting bagi ekosistem padang lamun tersebut dengan hasil filum Protobacteria ditemukan melimpah pada padang lamun dengan kandungan karbon yang tinggi dan terlibat dalam siklus sulphur dan remineralisasi karbon. Filum Protobacteria menjadi kelompok dari jenis bakteri *Pseudomonas sp.* yang memiliki kemampuan dalam mendegradasi minyak solar.

Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh isolat bakteri hidrokarbonoklastik yang diperoleh dengan mengisolasi sampel rhizosfer lamun dari perairan Desa Tunggul, Kecamatan Paciran, Lamongan. Isolat bakteri yang ditemukan selanjutnya diidentifikasi sebagai penentuan kelompok bakteri hidrokarbonoklastik. Masing-masing isolat bakteri yang telah diidentifikasi dilakukan pengujian untuk mengetahui kemampuan dari tiap isolat dalam mendegradasi minyak solar. Pengujian yang dilakukan meliputi: uji pertumbuhan bakteri, perubahan pH, dan degradasi minyak solar pada media.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang sebelumnya telah disebutkan, rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Apa saja isolat bakteri hidrokarbonoklastik yang ditemukan pada rhizosfer lamun?
2. Bagaimana kemampuan degradasi minyak solar yang dimiliki oleh masing-masing isolat bakteri yang ditemukan dari rhizosfer lamun?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. Mengetahui isolat bakteri hidrokarbonoklastik yang ditemukan pada rhizosfer lamun.
2. Mengetahui kemampuan degradasi minyak solar dari masing-masing isolat bakteri yang ditemukan pada rhizosfer lamun.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil yang diperoleh pada penelitian ini dapat dijadikan sumber informasi mengenai kemampuan dari bakteri hidrokarbonoklastik asal lingkungan tercemar minyak dalam mendegradasi polutan minyak bumi terutama jenis minyak solar, sehingga bakteri ini dapat digunakan sebagai agen bioremediasi alami yang ramah lingkungan. Selain itu hasil dari penelitian juga dapat dimanfaatkan untuk pengembangan penelitian lebih lanjut terkait tingkat kemampuan bakteri dalam penghasil jenis biosurfaktan, dan penggunaannya dalam bioremediasi pada lingkungan dan skala industri.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini yaitu:

1. Pengidentifikasian dugaan kelompok bakteri hanya sampai pada tingkat genus.
2. Sampel rhizosfer lamun berasal dari padang lamun Desa Tunggul, Kecamatan Paciran, Lamongan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ekosistem Lamun

Lamun (*seagrass*) adalah tumbuhan yang hidup di perairan yang memiliki bunga (*anthopyta*) dan akar, batang, daun sudah dapat dibedakan. Karena perkembangan lamun dapat terjadi dalam jumlah yang banyak (Falah *et al.*, 2020). Tumbuhan lamun (Gambar 2.1) dapat berkembang membentuk suatu padang atau hamparan yang cukup luas baik di zona intertidal maupun subtidal. Hamparan lamun tersebut biasa dikenal dengan sebutan padang lamun (Zurba, 2018). Tumbuhan lamun (*seagrass*) tentu saja berbeda dengan rumput laut (*seaweed*). Perbedaan tersebut terletak pada bagian kedua tumbuhan tersebut. Pada rumput laut hanya terdiri atas thallus saja, tidak memiliki akar, batang, maupun daun. Hal tersebut menjadikan lamun memiliki hubungan lebih dekat dengan tumbuhan darat dibandingkan dengan tumbuhan laut seperti alga. Lamun memiliki kemampuan beradaptasi pada kondisi lingkungan perairan. Lamun menjadi satu-satunya tumbuhan golongan *spermatophyta* atau tumbuhan berbunga yang dapat hidup pada lingkungan perairan.



Gambar2. 1 Tumbuhan Lamun
(Sumber: Nuansa, 2021)

Terdapat total sebanyak 58 jenis lamun dari 12 marga yang tumbuh diseluruh dunia dengan 12 jenis lamun dari 7 marga dan 2 suku dapat ditemukan

di Indonesia dimana hampir seluruhnya memiliki skala yang besar dan membentuk padang lamun (*seagrass bed*) yang menutupi dasar perairan

Terdapat total 58 spesies dari 12 marga lamun yang tumbuh di seluruh dunia, dan di Indonesia terdapat 12 spesies lamun dari 7 marga dan 2 suku yang telah disajikan pada Tabel 2.1 hampir semuanya memiliki skala besar membentuk padang lamun (*seagrass bed*) (Zurba, 2018).

Tabel 2. 1 Jenis Lamun yang Ditemukan di Indonesia

Divisi	Class	Ordo	Famili	Genus	Spesies
Anthophyta	Angiospermae	Helobiae	Potamogetonaceae	Halodule	<i>H. pinvolia</i>
					<i>H. uninervis</i>
				Cymodocea	<i>C. rotundata</i>
					<i>C. serulata</i>
			Syringodium	<i>S. isoetifolium</i>	
			Thalassodendron	<i>T. ciltatum</i>	
			Hydrocharitaceae	Enhalus	<i>E. acoroides</i>
				Thalassia	<i>T. hemprichii</i>
				Halophila	<i>H. spinulosa</i>
					<i>H. decipiens</i>
				<i>H. minor</i>	
				<i>H. ovalis</i>	

Substrat lamun umumnya merupakan substrat lumpur, pasir, dan lumpur berpasir bahkan puing-puing karang yang dapat tumbuh hingga kedalaman 40 meter di laut atau perairan dangkal. Tumbuhan ini juga ditemukan di antara ekosistem karang dan di naungan hutan bakau. Lamun tidak dapat bertahan hidup di daerah dengan gelombang tinggi dan pasang surut yang kuat. Ini karena dapat menyebabkan lamun terkubur sedimen yang terbawa. Padang lamun akan membentuk suatu zonasi karena pengaruh dari topografi perairan dan perbedaan karakteristik setiap jenis lamun terutama pada padang lamun yang terdiri atas campuran jenis lamun. Terdapat tiga zonasi padang lamun berdasarkan kedalamannya:

- Zona 1 : 0-1 meter , daerah dangkal yang selalu terbuka saat air surut
- Zona 2 : 1-5 meter, daerah pasang surut dengan lokasi tetap terendam meskipun air surut
- Zona 3 : 5-35 meter, daerah laut yang selalu terendam air

2.1.1 Fungsi Lamun

Lamun dianggap tumbuhan yang keberadaannya tidak memiliki fungsi, padahal lamun menyimpan berbagai peran yang begitu besar. Fungsi lamun secara ekonomi antara lain yaitu: sebagai atap, makanan ternak, pupuk, dan obat-obatan. Secara ekologi lamun berperan bagi organisme diperairan tersebut untuk tempat memijah, berlindung, dan mencari makanan. Secara fisik lamun memiliki fungsi untuk mengurangi dampak erosi pantai karena mampu melindungi pantai dari hempasan ombak, stabilisator sedimen, dan menahan endapan. Selain itu padang lamun memiliki peran dalam mengurangi pemanasan global karena penyerapan terhadap karbon menjadi biomassa yang disimpan pada substrat lamun. Biomassa biasanya disimpan pada substrat bagian atas karena memiliki waktu simpan yang lama dibandingkan substrat bagian bawah.

Ekosistem lamun menjadi produsen primer bagi jaring-jaring makanan di perairan. Lamun memiliki produktivitas primer sebesar 900-4650 gC/m²/tahun yang secara umum ditentukan dari ketersediaan unsur hara, nitrat, fosfat, dan ammonium. Ekosistem ini juga sebagai pelengkap fungsi akan ekosistem mangrove dan karang dimana habitatnya sebagai tempat kehidupan ikan-ikan dan krustacea muda dari para predator (Zurba, 2018). Selain itu lamun memiliki kemampuan dalam menyerap dan mengakumulasi bahan pencemar yang terdapat pada perairan ke dalam tubuhnya. Kemampuan tersebut membuat lamun dapat digunakan sebagai bioindikator pencemar pada suatu perairan (Falah, *et al.*, 2020).

Meskipun banyak sekali manfaat akan adanya ekosistem lamun di suatu perairan, ternyata perhatian akan lamun sangat ironis. Kepadatan dan pertumbuhan lamun sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain yaitu pola pasang surut, salinitas, temperatur, dan turbiditas perairan. Selain itu eksistensi lamun juga dipengaruhi oleh kegiatan manusia di wilayah pesisir seperti pembangunan, perikanan, dan rekreasi. Sehingga apabila aktivitas manusia sudah tidak terkontrol lagi dan menyebabkan perubahan bentuk pesisir maka akan menimbulkan gangguan akan fungsi dari ekosistem lamun tersebut (Zurba, 2018).

2.1.2 Rhizosfer Lamun

Rhizosfer adalah daerah yang berada didekat perakaran tanaman. Tanah dibagian rhizosfer ini diketahui memiliki jumlah cendawan dan bakteri yang lebih banyak apabila dibandingkan dengan tanah non rhizosfer atau tanah tanpa perakaran. Adapun jenis-jenis bakteri yang biasa ditemukan dalam jumlah melimpah di daerah rhizosfer yaitu jenis *Agrobacterium*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Cellulomonas*, *Flavobacter*, *Micrococcus*, *Mycobacter*, dan *Pseudomonas* (Mukamto *et al.*, 2015). Keberadaan mikroba rhizosfer memiliki fungsi yang sangat penting bagi tanaman di daerah tersebut. Mikroba rhizosfer memiliki peran sebagai pengambil nutrisi dan zat hara yang diperlukan tanaman, menjaga kesehatan akar tanaman, pertumbuhan tanaman, proses pembentukan tanah, agen pengendai hayati, dan aktivitas mikroorganisme lainnya (Putra *et al.*, 2020).

Rhizosfer menjadi daerah yang ideal bagi bakteri antagonis untuk dapat tumbuh dan berkembang biak. Kelimpahan dan keanekaragaman mikroba pada rhizosfer dipengaruhi oleh faktor lingkungan yang berperan bagi tanaman dalam mengekskresikan nutrisi (Kuswinanti *et al.*, 2014). Melalui akar, tumbuhan akan mengeluarkan ekstrudat akar atau suatu senyawa organik dan enzim. Hal tersebut menjadikan rhizosfer merupakan

lingkungan yang baik bagi mikroba dalam tanah untuk tumbuh (Falah *et al.*, 2020).

2.2 Minyak Solar

Minyak bumi (petroleum) dalam skala industri merupakan produk yang penggunaannya sudah mencapai skala yang luas. Minyak bumi mengandung senyawa hidrokarbon yang dapat diklasifikasikan menjadi hidrokarbon alifatik, hidrokarbon aromatic, hidrokarbon poli-aromatik, dan sikloalkana. Karakteristik polutan minyak bumi, memiliki pengaruh pada tingkat dari pencemaran.

- Tekanan Uap (*Vapor Pressure*)
Pencemaran minyak mudah menguap apabila memiliki tekanan uap yang tinggi. Tekanan uap minyak berbanding lurus dengan suhu dan berbanding sebaliknya dengan berat molekul, dimana tekanan uap akan meningkat apabila suhu tinggi dan berat molekulnya rendah.
- Kelarutan (*Water Solubility*)
Kelarutan adalah berat senyawa yang dapat larut pada air tiap satuan volumenya. Nilai kelarutan minyak dapat menentukan kemampuan minyak untuk dapat larut. Nilai kelarutan minyak yang tinggi menunjukkan bahwasannya pengenceran minyak (jumlah minyak yang larut dalam air) semakin banyak yang selanjutnya akan membantu percepatannya dalam proses biodegradasi
- Berat Jenis (*Liquid Density*), Berat Jenis Uap (*Vapor Density*), Kekentalan (*Liquid Viscosity*)
Berat Jenis, berat jenis uap, dan kekentalan dimiliki minyak menentukan mobilitas minyak atau kemampuannya dalam bergerak pada butiran tanah
- Tingkat Biodegradasi (*Biodegradability*)
Tingkat biodegradasi pada minyak ditentukan dari konsentrasi, kelarutan, jenis hidrokarbon dan molekulnya.

- **Konsentrasi**

Tingkat biodegradasi minyak dipengaruhi salah satunya oleh konsentrasi zat kimia pada minyak bumi. Tingkat konsentrasi minyak bumi dapat diketahui dengan mengukur *Total Petroleum Hydrocarbon* atau biasa disebut dengan TPH. Mikroba pendegradasi akan dapat tumbuh dan berkembang pada komponen minyak yang memiliki konsentrasi rendah, akan tetapi jika terlalu rendah tidak memenuhi kecukupan energi mikroba. Sedangkan jika konsentrasi dalam tingkat yang tinggi menyebabkan lingkungan menjadi toksik.

Untuk minyak bumi jenis solar memiliki karakteristik tingkat kelarutan sebesar 3,2 mg/L, tekanan uap sebesar 2,12-26,4 mm/Hg, densitas sebesar 0,87-0,95 g/cm³, kekentalan sebesar 1,15-1,97 cPoise, berat jenis uap 109 gm³ dengan titik didih sebesar 2,12-26,4 °C (Ali, 2012)

2.3 Bioremediasi

Bioremediasi merupakan upaya penguraian/pengurangan pencemar organik terurai (*biodegradable organic*) di dalam air, tanah, dan lumpur dengan memanfaatkan kemampuan mikroba dalam reaksi mikrobiologisnya. Reaksi tersebut merupakan suatu reaksi reduksi-oksidasi (redoks) dengan sumber energi/makanan sebagai donor elektron dan oksigen sebagai akseptor elektron. Proses bioremediasi terjadi karena mikroorganisme mensuplai enzim dalam aktivitasnya yang berguna untuk mempercepat pemusnahan zat-zat kontaminan. Dalam proses bioremediasi terdapat kondisi aerob dan anaerob bagi metabolisme microbial. Kondisi aerob merupakan kondisi dimana mikroorganisme dalam rekasnya membutuhkan oksigen, sedangkan mikroorganisme dengan reaksi tanpa oksigen merupakan reaksi anaerob. Reaksi anaerob terbagi menjadi respirasi anaerob, fermentasi, dan fermentasi metana.

Bioremediasi sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan sekitar. Sangat diperlukan suatu kondisi lingkungan yang optimal untuk mikroba agar dapat tumbuh. Hal tersebut dikarenakan mikroorganisme memiliki tingkat kesensitifan

yang sangat tinggi terhadap perubahan kondisi lingkungan seperti suhu, pH, oksigen, kelembaban dan nutrisi. Selain itu faktor fisik seperti ketersediaan bahan pencemar, air, dan aseptor elektron juga penting bagi mikroba. Adapun kelebihan penggunaan teknik bioremediasi dalam mendegradasi bahan pencemar antara lain:

- Membersihkan pencemar hidrokarbon secara permanen.
- Dapat dilakukan secara in-situ, yaitu dilokasi pencemaran
- Mudah diperoleh di alam bebas
- Proses berjalan secara alami
- Ramah lingkungan

Sedangkan dibalik kelebihan yang dimiliki bioremediasi, adapun kekurangannya yaitu:

- Karena banyaknya interaksi yang terjadi, maka hasil sulit untuk diramalkan
- Proses membutuhkan waktu yang lama
- Hanya dapat diterapkan pada pencemar biodegradable

Mikroba aerobik dapat menguraikan hampir seluruh jenis hidrokarbon yang terkandung dalam minyak bumi. Berdasarkan lokasi, terdapat teknik insitu dan ex-situ dalam bioremediasi aerobik. Bioremediasi in-situ merupakan bioremediasi yang dilaksanakan pada lokasi asli pencemar dan media tercemar. Sedangkan bioremediasi ex-situ merupakan bioremediasi yang dilakukan dengan memindahkan pencemar dan media tercemar dari lokasi asalnya. Berdasarkan metode pengayaannya adapun teknik bioremediasi augmentasi (Bioaugmentation) yaitu bioremediasi yang menggunakan mikroba khusus dari tempat lain yang secara umum juga disertai adanya enzim tambahan, dan bioremediasi Simulasi (Biostimulan) yaitu bioremediasi dengan menstimulan metabolisme bakteri yang berasal dari lokasi asli. Beberapa faktor-faktor yang perlu diperhatikan dalam memulai dan menentukan teknik bioremediasi yaitu berupa lokasi, wujud, biodegradabilitas, dan potensi migrasi dari bahan pencemar.

Pengaplikasian bioremediasi menarik untuk diterapkan karena tidak adanya dampak negatif bagi kesehatan makhluk hidup maupun lingkungan serta

hampir seluruh kontaminan negatif dapat dimusnahkan. Beberapa masalah yang terjadi sebelumnya menyebabkan bioremediasi dalam pengaplikasiannya hanya mendapatkan sedikit perhatian, yaitu adanya anggapan mengenai banyaknya kontaminan resisten atau komponen kimia berbahaya terhadap proses biodegradasi, padahal resistensi kontaminan dapat terjadi apabila aktivitas dari mikroba pendegradasi tidak sesuai dengan kondisi lingkungannya. Selain itu kurangnya penelitian mengenai interaksi biokimia mikroba dan kurangnya pengetahuan mengenai proses-proses biologis, sehingga terjadinya anggapan yang tidak benar tentang sistem biologis yang tidak dapat dikontrol ataupun diprediksi (Ali, 2012).

2.4 Bakteri

Bakteri adalah mikroorganisme prokariotik uniseluler, tidak memiliki klorofil (kecuali pada beberapa jenis yang bersifat fotosintetik), berkembang biak secara aseksual melalui pembelahan diri. Bakteri mampu hidup secara bebas, saprofit, parasit, hingga pathogen pada manusia, hewan dan tumbuhan dan keberadaannya menyebar luas di alam.

Secara umum bakteri berukuran 0,5-10 μ dan berbentuk bulat, batang, hingga melengkung. Bentuk dari bakteri dipengaruhi oleh umur, dan syarat pertumbuhannya. Selain itu bakteri dapat mengalami perubahan bentuk akibat dari faktor makanan, suhu, dan kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan bagi pertumbuhan suatu bakteri.

2.4.1 Fase Pertumbuhan Bakteri

Pertumbuhan bakteri terjadi beberapa fase yang dilalui dan dapat disajikan menggunakan kurva pertumbuhannya. Adapun empat fase pertumbuhan bakteri yaitu:

1. Fase Lag/Adaptasi

Bakteri akan berada pada fase adaptasi ketika saat permulaan dipindah dalam media pertumbuhan. Kondisi ini bertujuan bagi bakteri untuk menyesuaikan dengan kondisi lingkungan sekitarnya. Lama fase lag

dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu: a) media dan lingkungan pertumbuhan, apabila kondisi media sama dengan lingkungan bakteri sebelumnya maka bakteri tidak membutuhkan waktu adaptasi. Akan tetapi apabila media memiliki kondisi yang berbeda dari sebelumnya, maka bakteri membutuhkan waktu untuk beradaptasi. b) Jumlah inokulum, dimana tingginya jumlah awal sel akan mempercepat fase lag.

2. Fase Log/Pertumbuhan Eksponensial

Bakteri pada fase log mengalami pembelahan yang cepat dan membutuhkan energi yang lebih banyak dibandingkan dengan fase lainnya. Kecepatan pertumbuhan bakteri pada fase ini sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan seperti pH, suhu, dan kandungan nutrisi pada media pertumbuhannya. Fase log diakhiri dengan berkurangnya nutrisi yang terkandung pada media dan adanya zat beracun hasil metabolisme bakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

3. Fase Stationer

Bakteri pada fase stationer memiliki jumlah yang sama karena jumlah dari sel yang tumbuh sama dengan yang mati. Ukuran sel bakteri menjadi lebih kecil karena nutrisi untuk pertumbuhannya sudah habis tetapi tetap terus membelah. Sel pada fase ini memiliki pertahanan pada kondisi ekstrim.

4. Fase Kematian

Nutrisi dan energi cadangan yang terkandung pada media telah habis, sehingga sebagian populasi bakteri pada fase ini akan mengalami kematian.

2.4.2 Bakteri Hidrokarbonoklastik

Bakteri hidrokarbonoklastik merupakan bakteri diazotropik pendegradasi kontaminan hidrokarbon pada suatu lingkungan. Bakteri ini penyebarannya sangat luas pada seluruh lingkungan dan penggunaannya memiliki kelebihan dalam biaya yang cukup hemat dan ramah lingkungan (Dashti *et al.*, 2015).

Spesies bakteri dalam pertumbuhannya membutuhkan substrat yang spesifik. Spesies tunggal mikroorganisme tersebut tidak mampu untuk medegradasi keseluruhan minyak bumi yang memiliki susunan senyawa yang begitu kompleks. Selama mendegradasi minyak bakteri-bakteri tersebut akan saling berinteraksi membentuk konsorsium. Pada saat proses evolusi organisme perombak termasuk mikroorganisme di suatu lingkungan kadang kalanya mereka belum pernah berhubungan dengan senyawa minyak bumi. Mikroorganisme tersebut tidak mampu merombak minyak bumi karena tidak memiliki enzim yang diperlukan untuk hal tersebut. Sehingga pada suatu daerah minyak bumi dapat bersifat rekalsitran (Nugroho, 2006). Beberapa contoh dari jenis bakteri hidrokarbonoklastik yang pernah ditemukan dan diujikan dalam mendegradasi beberapa jenis hidrokarbon disajikan pada Tabel 2.2

Tabel 2. 2 Beberapa Contoh Jenis Bakteri Hidrokarbonoklastik

Isolat Bakteri	Jenis Hidrokarbon	Referensi
<i>Sporosarcina</i> sp. <i>Proteus</i> sp. <i>Actinobacillus</i> sp. <i>Flavobacterium</i> sp.	Crude oil	Hardestyariki <i>et al.</i> , 2020
<i>Alcanivorax nanhaiticus</i> <i>Halomonas meridiana</i>	Minyak Solar	Puspitasari <i>et al.</i> , 2020
<i>Vibrio alginolyticus</i>	Minyak solar	Prakoso <i>et al.</i> , 2020
<i>Rhodococcus</i> <i>Bacillus</i> <i>Sphingopyxis</i> <i>Rhizobium</i> <i>Mycobacterium</i> <i>Gordonia</i>	Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH)	Afianti <i>et al.</i> , 2019
<i>Pseudomonas</i> <i>Acinetobacter</i> <i>Klebsiella</i> <i>Enterobacter</i> <i>Salmonella</i> <i>Ochrobactrum</i>	Diesel oil	Mwaura <i>et al.</i> , 2018

Isolat Bakteri	Jenis Hidrokarbon	Referensi
<i>Pseudomonas stutzeri</i>		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
<i>Pseudomonas putida</i>	Senyawa benzene	
<i>Pseudomonas pseudomallei</i>		
<i>C. famata</i>		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
<i>Pseudomonas stutzeri</i>		
<i>Pseudomonas pseudomallei</i>		
<i>C. famata</i>	Senyawa Toluene	Purbowati <i>et al.</i> , 2011
<i>Pseudomonas putida</i>		
<i>Acinetobacter faecalis type II</i>		
<i>C. parapsilopsis</i>		
<i>Pseudomonas pseudomallei</i>		
<i>Pseudomonas stutzeri</i>		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Senyawa Xilen	
<i>C. parapsilopsis</i>		
<i>Actinobacillus sp.</i>		
<i>C. famata</i>		

2.5 Integrasi Keilmuan

Tidak semua bakteri memiliki sifat negatif atau merugikan manusia. Banyak penelitian yang dilakukan telah membuktikan bahwa beberapa jenis bakteri memiliki manfaat di kehidupan manusia. Pada QS Al-Baqarah ayat 26 Allah SWT berfirman:

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَنْحِيهِ أَنْ يُضْرَبَ مِثْلًا مَّا بَعُوضَةٌ فَمَا فَوْقَهَا ۗ فَأَمَّا الَّذِينَ آمَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ

مِّن رَّبِّهِمْ ۗ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مِثْلًا ۚ يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا ۖ وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا ۚ وَمَا يُضِلُّ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ ۙ

Artinya: “Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu. Adapun orang-orang yang beriman, maka mereka yakin bahwa perumpamaan itu benar dari Tuhan mereka, tetapi mereka yang kafir mengatakan: "Apakah maksud Allah menjadikan ini untuk perumpamaan?". Dengan perumpamaan itu banyak orang yang disesatkan Allah,

dan dengan perumpamaan itu (pula) banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. Dan tidak ada yang disesatkan Allah kecuali orang-orang yang fasik”

Berdasarkan tafsir Al-Muyassar/Kementerian Agama Saudi Arabia, QS Al-Baqarah ayat 26 menjelaskan sesungguhnya Allah SWT tidak akan malu dari kebenaran dengan menyebutkan sesuatu baik dalam jumlah kecil ataupun dalam jumlah besar, meski hanya dengan membuat perumpamaan dengan sesuatu yang kecil seperti nyamuk atau lalat atau hewan lainnya. Allah menjadikan perumpamaan yang lemah bagi sesuatu yang disembah selain Allah SWT. Bagi orang mukmin akan mengetahui hikmah Allah SWT dari perumpamaan ini. Sedangkan orang kafir akan mencemooh dengan menanyakan maksud perumpamaan serangga yang hina tersebut.

Allah SWT menjawab pengingkaran kaum kafir dengan menyebutkan tujuan membuat perumpamaan itu yaitu sebagai penguji dan pembeda antara orang mu'min dan orang kafir . Maka dari itu Allah SWT allah memberi taufik dan hidayah bagi orang-orang yang tidak berpaling dari perumpamaan yang Allah SWT ciptakan. Allah SWT juga tidak mendzolimi siapapun karena Dia tidak memalingkan kebenaran kecuali kepada orang-orang yang keluar dari ketaatan pada Allah SWT. Sehingga maksud dari ayat tersebut bahwasannya Allah tidak malu menciptakan hal sekecil apapun termasuk bakteri yang memiliki ukuran sangat kecil dimana tidak ada ciptaan-Nya yang sia-sia dan seluruhnya berguna untuk kebaikan manusia. Contohnya yaitu mengenai bakteri hidrokarbonoklastik yang bermanfaat bagi pemulihan lingkungan yang mengalami kerusakan tanpa menimbulkan dampak kerusakan lainnya karena bakteri tersebut berasal dari lingkungan itu sendiri.

2.6 Penelitian Terdahulu

Adapun penelitian terdahulu mengenai isolasi dan pengujian dari bakteri hidrokarbonoklastik dalam mendegradasi hidrokarbon minyak bumi disajikan pada Tabel 2.3

Tabel 2. 3 Penelitian Terdahulu Mengenai Bakteri Pendegradasi Minyak

Judul	Nama Peneliti, Tahun	Perbedaan	Hasil
Potensi Degradasi Minyak oleh Konsorsium Bakteri dari Sedimen Mangrove Bintan	Nur F. Afianti, Deva Febrian, 2020; Prosiding IRWNS	Tidak dilakukan identifikasi jenis bakteri dan pengujian disajikan di tiap stasiun. Sedangkan dalam penelitian yang dilakukan, isolat bakteri berasal dari sampel yang dikumpulkan dari beberapa titik dan identifikasi bakteri dilakukan sampai tingkat genus	Konsorsium bakteri sedimen mangrove Bintan memiliki kemampuan dalam mendegradasi minyak. Konsorsium bakteri yang diperoleh dari sedimen mangrove <i>Xylocarpus granatum</i> dari daerah Lagoi (S2) memiliki tingkat penurunan TPH tertinggi yaitu sebesar 52,9%
Potensi Degradasi Minyak Solar oleh Bakteri Hidrokarbonoklastik di Perairan Pelabuhan Tanjung Perak	Ika Nurjanah, Mauludiyah, Misbakhul Munir, 2020; Journal of MRCM	Isolat bakteri yang diidentifikasi pada studi ini disajikan di setiap titik lokasi pengambilan sampel dan berbeda dengan penelitian yang dilakukan karena isolat bakteri disajikan dari gabungan sampel di setiap titiknya	Diperoleh 5 isolat bakteri pada sampel stasiun 1 dan 2 isolat pada stasiun 2. Pada Stasiun 1 jenis bakteri <i>Pseudomonas</i> dan <i>Bacillus</i> memiliki tingkat degradasi yang tertinggi, Untuk stasiun 2 yaitu oleh genus <i>Bacillus</i> . Tingkat degradasi minyak solar secara signifikan yaitu dari kemampuan konsorsium bakteri

Judul	Nama Peneliti, Tahun	Perbedaan	Hasil
Aplikasi Isolat Bakteri Hidrokarbonoklastik asal Rizosfer Mangrove pada Tanah Tercemar Minyak Bumi	Nuni Gofar, 2012; Jurnal Lahan Suboptimal	Berbeda dengan penelitian yang dilakukan, pada studi ini jenis isolat tidak diidentifikasi dan disajikan dengan kode isolat. Studi ini juga dilakukan pengujian pelepasan kadar CO ₂ dimana tidak dilakukan pada penelitian ini.	Ditemukan 9 isolat bakteri hidrokarbonoklastik yang mampu tumbuh pada medium mengandung minyak bumi dan mampu mendegradasi minyak bumi. terdapat 2 isolat bakteri yang memiliki tingkat degradasi tertinggi yaitu dari jenis <i>Pseudomonas alcaligenes</i> sebesar 63% dan <i>Alcaligenes facealis</i> sebesar 70%
Uji Kemampuan Konsorsium Bakteri Hidrokarbonoklastik sebagai Agen Bioremediasi	Dwi Hardestyariki, Bambang Yudoyono, 2020; Jurnal Ilmiah Biologi	Kemampuan degradasi hidrokarbon yang diujikan pada studi ini dilakukan oleh konsorsium bakteri, sedangkan pada penelitian diujikan di setiap isolat. Studi ini juga melakukan pengujian pelepasan kadar CO ₂ yang tidak dilakukan pada penelitian ini.	Didapatkan 11 isolat bakteri yang memiliki kemampuan dalam mendegradasikan senyawa hidrokarbon, dan 4 isolat yang memiliki potensi sebagai agen bioremediasi. Konsorsium bakteri tersebut mampu menurunkan jumlah TPH sebesar 57,33% dan didukung dengan kenaikan CO ₂ dan populasi bakteri sebesar 7,81 sel/jam

Judul	Nama Peneliti, Tahun	Perbedaan	Hasil
<p>Analisis Hasil Isolasi Bakteri Lokal Terhadap Kemampuan-nya Mendegradasi Berbagai Jenis Minyak Bumi</p>	<p>Himawan Ganjar P, Edwan Kardena, 2014; Jurnal Teknik Lingkungan</p>	<p>Uji degradasi pada studi ini juga dilakukan analisis GCMS yang tidak dilakukan pada penelitian ini sehingga mengetahui jenis senyawa hidrokarbon yang hilang oleh proses biodegradasi</p>	<p>Diperoleh dua jenis bakteri yang mampu mendegradasi minyak. Dari 3 jenis minyak yang diuji degradasinya, isolat bakteri unggul dalam mendegradasikan jenis minyak solar. Diantara kedua bakteri, Bacillus simplex kemampuan mendegradasi solar paling baik yaitu dengan kinetika pertumbuhan. Nilai TPH juga mengalami penurunan sebesar 71,40%, dan hasil GCMS menunjukkan bahwa senyawa nonane, decane, oxirane, naftalene, dodecane, undecane, tetradecane, eicosane, hexadecane dan oktadecane telah hilang</p>

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

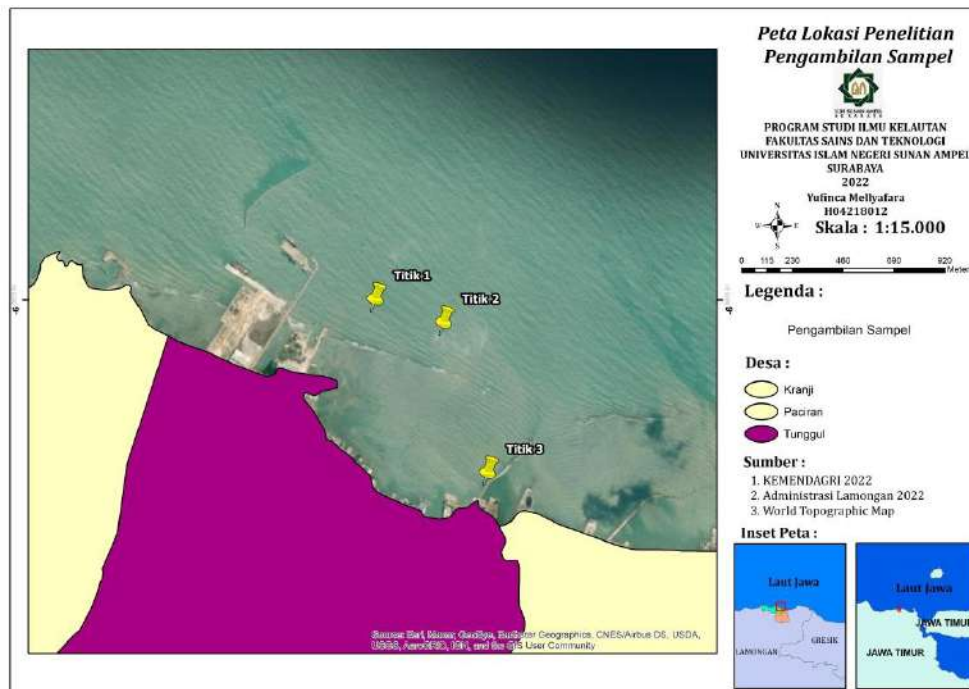
Penelitian ini berlangsung pada bulan April 2022 hingga Oktober 2022. Sampel rhizosfer lamun diperoleh dari padang lamun Desa Tunggul, Kecamatan Paciran, Kabupaten Lamongan. Sedangkan untuk Isolasi bakteri dan uji kemampuan biodegradasi, dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Oceanografi, Gedung Laboratorium Integrasi Universitas Islam Negeri Sunan Ampel Surabaya.

3.2 Prosedur Kerja

Adapun tahap penelitian pada penelitian ini meliputi pengambilan sampel, isolasi bakteri dan uji kemampuan degradasi minyak.

3.2.1 Pengambilan Sampel Rhizosfer

Pengambilan sampel tanah dilakukan menggunakan metode purposive sampling pada rhizosfer tumbuhan lamun dari 3 titik (Gambar 3.1) yang ditentukan berdasarkan posisi dominan sumber dari pencemaran minyak solar di padang Lamun Desa Tunggul, Kecamatan Paciran, Kabupaten Lamongan. Sesuai dengan penelitian Ibrohim (2021) bahwa pengambilan sampel berasal dari 3 titik yang berbeda guna diperoleh beragamnya variasi dari bakteri hidrokarbonoklastik.



Gambar 3.1 Lokasi Pengambilan Sampel Rhizosfer Lamun

Sampel rhizosfer diambil sebanyak 0,5 – 1kg pada rentang jarak terdekat dengan akar tanaman lamun berdasarkan kepada Saraswati, *et al.* (2007) yaitu dengan cara:

- Menentukan tanaman lamun mana yang akan digali
- Lalu membersihkan permukaan tanah di bawah kanopi dari dedaunan atau serasah
- Penggalan tanah sekitar akar di bawah kanopi dapat dilakukan menggunakan alat (sekop) dan dilakukan secara perlahan
- Gumpalan besar tanah pada akar dipisahkan dan dibiarkan sebanyak mungkin tanah yang menempel pada akar
- Tajuk tanaman yang di dekat pangkal dipotong
- Akar dan tanah yang masih menempel dikumpulkan pada plastik/wadah

Pengambilan sampel rhizosfer dilakukan menggunakan cara yang sama pada setiap titik lokasi. Selanjutnya sampel dari setiap titik dikompositkan ke dalam satu wadah dan disimpan sementara pada *cooler box* agar kondisi tetap

terjaga sebelum dilakukannya analisis untuk selanjutnya dilakukan penelitian isolat bakteri (Haripriyatna, 2016).

3.2.2 Pengkayaan Bakteri

Pengkayaan mikroorganisme dari senyawa yang sulit didegradasi perlu dilakukan untuk mengaklimatisasi mikroorganisme pada senyawa yang akan diteliti (Kristinanda, 2018). Tahapan pengkayaan kultur bakteri yang dilakukan mengacu pada Simaria & Pant (2015) yaitu dengan menimbang sampel rhizosfer sebanyak 1 gram dan selanjutnya diinokulasikan ke dalam 100 ml media Bushnell Haas Media Salt (BHMS) yang telah ditambahkan 0,5% minyak solar (v/v) yang berfungsi sebagai satu-satunya sumber karbon bagi bakteri (spesifikasi solar yang digunakan disajikan pada Lampiran 2). Campuran tersebut selanjutnya diinkubasi pada *shaker incubator* dengan suhu 37°C dengan kecepatan pemutaran 130 rpm selama 5 hari. Media BHMS dibuat dengan menggunakan bahan: 0,2 gram $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 0,02 gram $CaCl_2$; 1 gram KH_2PO_4 ; 1 gram K_2HPO_4 ; 1 gram NH_4NO_3 ; 2 tetes $FeCl_3$ (60% larutan); dan 1000 ml akuades.

3.2.3 Isolasi dan Pemurnian Bakteri

Sampel yang telah melalui tahap pengayaan, selanjutnya dilakukan pengenceran sampai dengan pengenceran 10^{-7} . Pengenceran dilakukan berdasarkan Huyyirnah & R (2021), yaitu dengan menambahkan 1 ml larutan stok atau larutan hasil pengenceran sebelumnya ke dalam 9 ml larutan NaCl fisiologis 0,9% dan selanjutnya dihomogenkan menggunakan vortex. Setiap hasil pengenceran terakhir, yaitu pengenceran 10^{-5} , 10^{-6} , dan 10^{-7} diambil sebanyak 1 ml dan ditambahkan secara duplo pada 2 media uji berbeda, yaitu media BHMS agar dan Natrium Agar (NA) menggunakan metode agar tuang/*pour plate*. Media ditunggu hingga memadat, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama kurang lebih 5 hari untuk media BHMS agar dan 24 jam untuk NA, atau hingga terlihat pertumbuhan koloni bakteri. Bahan yang digunakan

untuk pembuatan media BHMS agar sama halnya pada media BHMS cair, akan tetapi dengan tambahan 15 gram agar.

Pemurnian bakteri diperoleh dengan mengamati bakteri dengan pertumbuhan koloni yang berbeda dari segi karakteristik morfologi dari media hasil inkubasi, dipilih dan digoreskan (*streak plate*) menggunakan jarum ose steril pada cawan petri yang telah terisi media NA. Selanjutnya media diinkubasi pada suhu $37^{\circ}\text{C} \pm 24$ jam. Hal tersebut dilakukan secara berulang-ulang hingga didapatkannya koloni bakteri murni. Koloni bakteri murni dapat diketahui dengan menggunakan metode pewarnaan gram. Apabila dalam satu *plate*/cawan didapatkan koloni dengan bentuk dan warna yang seragam, dapat diartikan koloni telah murni. Koloni bakteri murni juga dapat diketahui dengan menggunakan metode pewarnaan gram. Jika hasil pewarnaan gram menunjukkan bentuk dan warna sel yang tidak seragam/berbeda, maka koloni masih belum murni dan dapat dilakukan penggosokan ulang hingga mendapatkan koloni murni (Munawar, 1999).

3.2.4 Identifikasi Isolat Bakteri Hidrokarbonoklastik

Isolat bakteri yang terpilih berdasarkan hasil seleksi, selanjutnya dilakukan identifikasi untuk menentukan jenis dari bakteri. Identifikasi dilakukan meliputi uji makroskopis dan mikroskopis..

1. Identifikasi Makroskopis

Uji makroskopis bakteri dilakukan dengan pengamatan secara fisik pada koloni bakteri meliputi: ukuran, bentuk, warna, elevasi, dan tepi/margin dari koloni. Identifikasi morfologi koloni bakteri disajikan pada Tabel 3.1

Tabel 3.1 Referensi Identifikasi Morfologi Koloni Bakteri

Morfologi	Jenis
Ukuran	Kecil, sedang, besar
Bentuk	Bulat, irregular, filamentous, spindle, rhizoid

Morfologi	Jenis
Warna	Berwarna, tidak berwarna
Elevasi	Flat, raised, convex, pulvinate, umbonate
Tepi/margins	Entire, undulate, lobate, serrate, rhizoid, filamentous

(Sumber: ATCC, 2022)

2. Identifikasi Mikroskopis

Uji mikroskopis yaitu dilakukan dengan pengamatan sel dan pewarnaan gram, sehingga uji mikroskopis ini bertujuan untuk mengetahui bentuk dari sel bakteri dan juga tipe warna yang dihasilkan dinding sel bakteri setelah dilakukan pewarnaan gram. Bakteri memiliki ukuran yang kecil (micron μ) dan terlalu kecil untuk dilihat dengan mata telanjang, maka uji mikroskopis perlu dilakukan dengan menggunakan bantuan mikroskop.

Adapun langkah-langkah dalam pewarnaan gram yaitu:

- Kaca preparat yang telah dibersihkan disiapkan dan diberi label
- Kaca preparat dibersihkan menggunakan alcohol dan dikeringkan
- Selanjutnya mengambil satu ose bakteri menggunakan jarum ose yang telah dilakukan pemijaran pada api Bunsen, lalu diratakan bakteri diatas kaca preparat
- Kaca preparat difiksasi diatas Bunsen
- Lalu meneteskan larutan Kristal violet, dan didiamkan selama 60 detik
- Selanjutnya preparat dibersihkan dengan mengalirkan akuades, lalu preparat dikeringkan
- Larutan lugol ditetskan, lalu didiamkan selama 60 detik
- Preparat dibersihkan dengan mengalirkan alkohol, lalu dikeringkan preparat
- Selanjutnya meneteskan larutan safranin, dan didiamkan selama 20 detik

- Terakhir, preparat dibersihkan dengan mengalirkan akuades, dan selanjutnya preparat dibiarkan hingga mengering

3.2.5 Uji Pendugaan Hemolisis Blood Agar

Uji hemolisis merupakan sebuah uji tambahan yang dapat dilakukan untuk mengetahui kemampuan hemolisis bakteri dan potensinya dalam menghasilkan senyawa biosurfaktan (Das *et al.*, 2008). Uji ini dilakukan sebagai uji dugaan awal terhadap kemampuan isolat bakteri yang ditemukan dalam mendegradasi hidrokarbon. Pengujian dilakukan dengan menggoreskan isolat bakteri terpilih pada media *blood agar* dan selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama ± 72 jam. Pengamatan dilakukan terhadap kemampuan bakteri dalam melisiskan sel darah merah dan hemoglobin yaitu dengan mengetahui hasil tipe zona hemolisis yang terbentuk.

Terdapat 3 jenis tipe hemolisis, yaitu: β -hemolisis, α -hemolisis, dan γ -hemolisis. Tipe β -hemolisis dapat mendestruksi sel darah merah dan hemoglobin secara total, sehingga dapat menghasilkan zona bening pada media disekitar koloni. Tipe α -hemolisis hanya mendestruksi sebagian sel darah merah dan hemoglobin, sehingga menghasilkan warna kehijauan disekitar koloni. Sedangkan untuk tipe γ -hemolisis sebenarnya termasuk kedalam non hemolisis dan hanya sebagai pertumbuhan sederhana tanpa adanya perubahan pada medium (Leboffe & Pierce, 2011).

3.2.6 Uji Kemampuan Mendegradasi Minyak Solar

Setiap masing-masing isolat yang telah diidentifikasi, diamati kemampuannya dalam mendegradasi minyak solar setiap harinya selama 7 hari dengan peubah yang diamati yaitu kadar sisa minyak solar (mg/L), presentasi biodegradasi (%), nilai pertumbuhan bakteri, dan perubahan pH.

1. Pembuatan Suspense Inokulum Bakteri untuk Pengujian

Pembuatan suspense sebagai inokulum pada proses pengujian dilakukan dengan menginokulasikan satu ose isolat mikroba terpilih hasil

pemurnian ke dalam media Nutrient Broth (NB) sebanyak 20 ml. Media selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama \pm 24 jam. Suspense sebelum ditambahkan pada media uji, dilakukan pengukuran OD hingga nilainya sebesar 0,1 dalam panjang gelombang 600 nm.

Pengamatan pertumbuhan bakteri, penurunan sisa kadar minyak, dan perubahan pH dilakukan secara bersamaan disetiap harinya, dalam jangka waktu 7 hari. Media uji dibuat dalam botol kultur yang telah terisi media 100 ml media BHMS cair dan 2% minyak solar dengan menambahkan 5% suspensi sel $A_{600}=0,1$ yang telah dibuat sebelumnya. Media selanjutnya dilakukan pengocokan pada *shaker* dan diamati setiap harinya untuk mengetahui perubahan yang terjadi (Ni'matuzahroh *et al.*, 2012). Selain itu, perlu adanya kontrol, yang dibuat dengan step dan bahan sesama, kecuali dengan penambahan isolat bakteri.

2. Pertumbuhan Bakteri dalam Media

Pertumbuhan bakteri diamati setiap hari selama tujuh hari dengan mengukur tingkat kekeruhan pada suspensi pertumbuhan bakteri menggunakan alat spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm. Menurut (Khoirunnisa, 2016) penggunaan panjang gelombang 600 nm dikarenakan penyerapan cahaya oleh bahan organik akan lebih mudah terjadi, dimana prinsip densitas optik (*Optical Density*) pada suspensi adalah menunjukkan penyebaran jumlah cahaya oleh suatu populasi. Jumlah cahaya yang diukur berasal dari banyaknya gelombang cahaya yang ditransmisikan setelah melewati suspensi biakan.

3. Analisa Kadar Minyak

Pengukuran sisa kadar minyak solar dilakukan menggunakan metode gravimetri dengan langkah-langkah mengacu pada penelitian (Nurjanah, Mauludiyah, & Munir, 2020). Media BHMS cair hasil pengocokan yang mengandung 5% isolat bakteri dan 2% minyak solar dimasukkan kedalam corong pisah. Selanjutnya, kedalam corong pisah ditambahkan HCl 3N sebanyak 5 ml. dan pelarut kloroform sebanyak 30

ml. Corong pisah selanjutnya dikocok dengan kuat selama 2 menit dengan sesekali membuka tutup corong pisah untuk mengeluarkan gas yang terbentuk.

Diamkan sejenak setelah dilakukan pengocokan hingga media dalam corong pisah stabil dan membentuk 2 lapisan yang terlihat. Timbang gelas beaker yang akan digunakan. Keluarkan lapisan minyak dan kloroform kedalam gelas beaker dengan menyaringnya terlebih dahulu menggunakan kertas saring yang telah diolesi 2 gram Na₂SO₄. Untuk mendapatkan sisa minyak solar, maka perlunya menghilangkan kloroform yang bercampur dengan minyak, yaitu dengan memanaskan gelas beaker yang berisi kloroform pada suhu 60°C agar kloroform dapat menguap dan menyisahkan minyak solar dalam beaker.

Gelas beaker yang berisi sisa minyak solar selanjutnya ditimbang dan dilakukan pencatatan massa gelas beaker sebelum (gelas beaker kosong) dan setelahnya (gelas beaker berisi minyak). Kadar minyak sisa selanjutnya dapat dihitung menggunakan persamaan 3.1 (SNI 06-6989.10-2004).

$$\text{Kadar Minyak } \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{\text{berat akhir} - \text{berat awal (gr)}}{mL \text{ contoh uji}} \times 1000 \quad \dots (3.1)$$

Selanjutnya untuk mengetahui persentase biodegradasi minyak solar dapat dilakukan perhitungan menggunakan persamaan 3.2 (Herdiyantoro, 2005)

$$\% B = \frac{B_{mo} - B_{mn}}{B_{mo}} \times 100 \quad \dots (3.2)$$

Keterangan:

%B : Persentase biodegradasi (%)

B_{mo} : Bobot minyak awal (gram)

B_{mn} : Bobot minyak akhir (gram)

4. Perubahan pH Media Kultur

Pengukuran pH dilakukan pada saat sebelum dilakukan pengocokan pada *shaker* dan setelah dilakukan pengocokan atau sebelum dilakukan pengujian pertumbuhan bakteri dan biodegradasi minyak. Pengukuran pH memiliki tujuan untuk mengetahui apakah terjadinya perubahan pH pada saat biodegradasi berlangsung.



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Desa Tunggul menjadi salah satu desa pesisir di Kabupaten Lamongan dengan ekosistem lamun yang tumbuh membentuk padang lamun di wilayah perairannya. Studi penelitian Nuansa (2021) menyatakan rata-rata tutupan tumbuhan lamun di perairan Tunggul, Lamongan adalah sebesar 33,10% yang artinya tutupan lamun tersebut berada pada cakupan kondisi sedang dengan dua jenis lamun yaitu *Thalassia hemprichii* & *Enhalus acoroides*. Berdasarkan hasil pengamatan, ekosistem lamun perairan Tunggul, Lamongan ini dikelilingi oleh berbagai aktivitas manusia yang terbilang cukup padat diantaranya terdapat pelabuhan, tempat perbaikan kapal (galangan kapal), dan lokasi wisata, dimana hal tersebut berpotensi menyebabkan pencemaran, salah satunya pencemaran minyak berupa jenis minyak solar yang merupakan bahan bakar kapal nelayan.

Minyak solar menjadi salah satu dari sekian banyak jenis pencemar laut. Minyak solar digunakan sebagai bahan bakar diesel seperti digunakan pada mesin kapal nelayan. Pencemaran laut oleh minyak solar dapat terjadi karena tumpahan minyak solar yang secara sengaja maupun tidak masuk ke dalam lingkungan laut. Pemanfaatan mikroba yang berasal dari rizosfer tumbuhan laut, yaitu lamun merupakan salah satu cara alami untuk dapat membantu menanggulangi bahaya cemaran minyak solar di laut.

4.1 Pengayaan dan Isolasi Bakteri dari Rizosfer Lamun Desa Tunggul

Rhizosfer lamun Desa Tunggul, Lamongan menjadi salah satu lokasi ditemukan bakteri yang hidup dalam populasi. Jenis bakteri yang memiliki potensi untuk mendegradasi minyak solar didapatkan dengan menumbuhkannya pada suatu media selektif. Media selektif merupakan media yang digunakan untuk dapat menumbuhkan bakteri tertentu dengan menghambat pertumbuhan bakteri non target (Nurjannah *et al.*, 2017).

Bakteri dengan kemampuan mendegradasi minyak yang terdapat di rizhosfer lamun Desa Tunggul diisolasi dengan cara menambahkan sampel tanah rizhosfer lamun pada media selektif. Pengayaan pada perlakuan ini dilakukan menggunakan media selektif Bushnell Haas Media Salt (BHMS) yang telah ditambahkan minyak solar 2% (v/v). BHMS merupakan media pertumbuhan bakteri dengan kandungan nutrisi yang minim karena tidak adanya sumber karbon berupa glukosa yang biasa digunakan oleh bakteri. Hal tersebut tentunya menyebabkan bakteri tidak memiliki cukup energi untuk tumbuh dan berkembang dalam media ini, sehingga bakteri dengan kemampuan khusus berupa hidup pada kondisi lingkungan ekstrim yang dapat tumbuh pada media ini. Penambahan sumber karbon berupa minyak solar ditujukan sebagai sumber makanan bagi bakteri hidrokarbonoklastik yang dapat hidup dan berpotensi mendegradasi minyak solar.



Gambar 4.1 Hasil Inkubasi/Pengocokan Sampel Rhizosfer pada Media

Hasil inkubasi sampel rizosfer yang dilakukan selama 5 hari pada *shaker* (Gambar 4.1) menunjukkan adanya perubahan pada media BHMS, yaitu media menjadi keruh dan juga terjadi perubahan warna pada media BHMS. Hal tersebut menunjukkan adanya pertumbuhan dan aktivitas dari bakteri asal sampel rizosfer dalam memanfaatkan minyak solar sebagai sumber karbon, serta adanya kemungkinan beberapa jenis bakteri yang menghasilkan pigmentasi. Putri *et al.* (2017) menyatakan bahwasannya jenis warna putih, ungu, merah, kuning, dan

lainnya merupakan warna pigmen yang dihasilkan oleh mikroorganisme kromogenik yang sering memproduksi pigmen intraseluler. Selain itu terdapat beberapa jenis lainnya dapat memproduksi pigmen ekstraseluler yang dapat larut pada media pertumbuhannya.

Pengisolasian dilanjutkan dengan menginokulasikan populasi bakteri ke media BHMS agar dan NA. Suspensi sampel yang telah dishaker dilakukan pengenceran hingga 10^{-7} menggunakan larutan NaCl fisiologis 0,9%. Tiga hasil pengenceran terakhir (10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7}) sebanyak 1 ml ditambahkan pada plate secara duplo dan pada masing-masing media BHMS agar dan NA menggunakan metode *pour plate* dan selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C . Hasil isolasi menunjukkan pada hari pertama inkubasi, pertumbuhan bakteri pada kedua media, yaitu BHMS agar dan Nutrient Agar (NA), mengalami perbedaan (Gambar 4.2).

Hasil pada media BHMS agar belum menunjukkan adanya tanda kehidupan bakteri. Media BHMS merupakan media selektif dimana kandungan nutrisi yang terkandung pada media tersebut lebih sedikit jika dibandingkan dengan media lainnya, sehingga hanya bakteri jenis tertentu yang memiliki adaptasi tinggi dan memerlukan waktu lebih lama bagi bakteri untuk dapat tumbuh. Sesuai dengan pernyataan Nurdin (2016), pertumbuhan bakteri pada media BHMS memiliki jumlah yang cenderung sedikit dan membutuhkan waktu inkubasi yang cukup lama, karena sedikitnya nutrisi yang terkandung pada media BHMS dan menyebabkan bakteri tidak mendapatkan energi yang cukup. Kemampuan degradasi minyak pada setiap bakteri juga memiliki perbedaan serta adanya beberapa faktor dalam pertumbuhannya.



Gambar 4.2 Hasil Isolasi pada Media BHMS (kiri) dan NA (kanan)

Sedangkan untuk hasil hari pertama pada media NA menunjukkan pertumbuhan bakteri yang cukup pesat. Media NA merupakan media umum yang sering digunakan pada uji pertumbuhan maupun isolasi bakteri. Misna & Diana (2016) menyatakan bahwasannya media NA menjadi media yang baik bagi pertumbuhan bakteri secara optimal dan telah teruji secara klinis. Komposisi media NA terdiri atas agar, ekstrak daging (*beef extract*), dan pepton. Ekstrak daging mengandung sumber karbohidrat, protein dan lemak yang berfungsi sebagai sumber karbon bagi metabolisme bakteri. Adapun pepton yaitu merupakan hidrolisis protein yang keberadaannya dibutuhkan bagi pertumbuhan bakteri secara umum sebagai sumber nitrogennya (Thawil, 2020). Kandungan nutrisi pada NA dapat dimanfaatkan bakteri hidrokarbonoklastik untuk metabolismenya sehingga bakteri yang diisolasi pada media NA mengalami pertumbuhan yang begitu cepat dan pesat (Putri, 2021).


Bakteri yang tumbuh pada media NA masih dalam bentuk populasi dari berbagai macam jenis bakteri, sehingga perlu dilakukannya pemurnian untuk mendapatkan isolat murni bakteri hidrokarbonoklastik sebagai uji kemampuan degradasi minyak solar. Pemurnian dilakukan dengan menggoreskan (*streak plate*) isolat bakteri yang berbeda karakteristik dari segi morfologinya, yaitu berupa: ukuran, bentuk, warna, elevasi dan tepi dari bakteri pada media NA. Selanjutnya media diinkubasi pada suhu 37°C. Media NA yang telah diinkubasi dan ditumbuhi bakteri yang masih memiliki varian bentuk dan karakteristik yang berbeda, maka dilakukan pemurnian kembali dengan cara yang sama yaitu

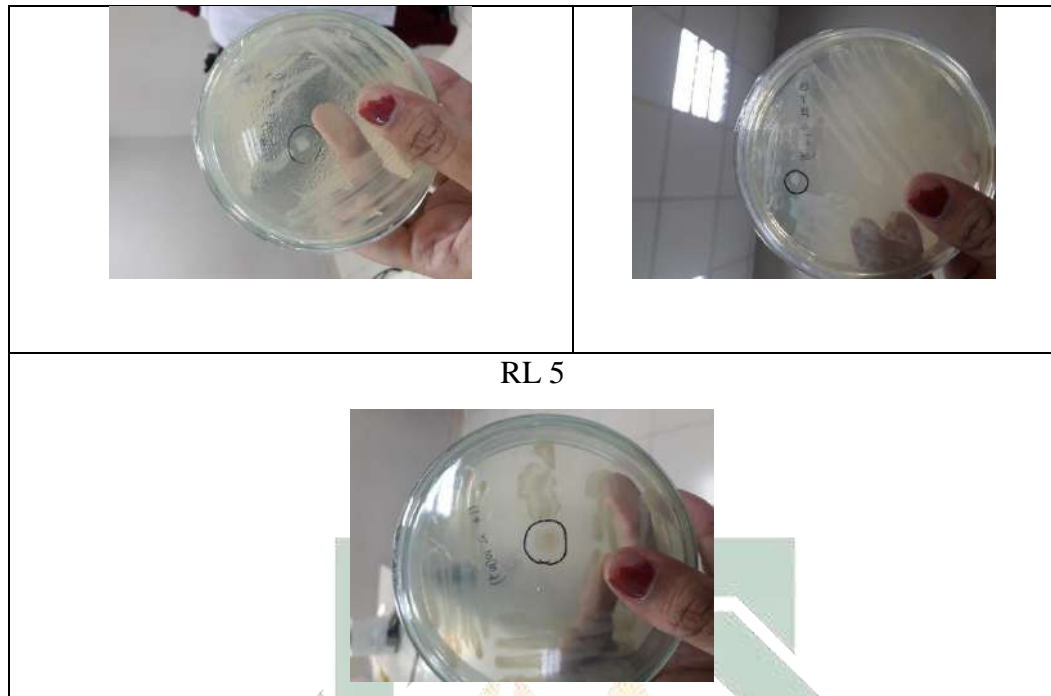
menggoreskan isolat yang berbeda dan dianggap dapat mewakili populasi koloni pada tiap cawan media NA hingga isolat bakteri yang didapat benar-benar murni isolat tunggal.

4.2 Identifikasi Isolat Bakteri Hidrokarbonoklastik

Hasil isolasi menunjukkan bahwasannya dari 3 titik lokasi pengambilan sampel rhizosfer lamun di Desa Tunggul, Lamongan ditemukan 5 jenis isolat murni bakteri hidrokarbonoklastik yang diduga memiliki potensi dalam mendegradasi minyak solar. Beragamnya isolat bakteri yang ditemukan juga berasal dari beragamnya aktivitas manusia penyebab cemaran minyak solar yang terjadi di beberapa titik, dimana menjadi lokasi pengambilan sampel rhizosfer lamun. Banyak kapal hingga perahu nelayan menjadi penyebab utama cemaran minyak solar. Buangan sisa bahan bakar kapal yang mengandung limbah minyak solar menjadikan sumber karbon yang dibutuhkan bagi pertumbuhan bakteri hidrokarbonoklastik. Lima macam kelompok bakteri yang memiliki varian bentuk yang berbeda diberi nama kode untuk memudahkan identifikasi dan uji selanjutnya, yaitu RL1, RL2, RL3, RL4, dan RL5. Lima isolat murni yang didapat disajikan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Isolat Murni Bakteri Pendegradasi Minyak dari Rhizosfer Lamun

<p style="text-align: center;">RL 1</p> 	<p style="text-align: center;">RL 2</p> 
<p style="text-align: center;">RL 3</p>	<p style="text-align: center;">RL 4</p>



Lima isolat yang ditemukan selanjutnya dilakukan identifikasi morfologi secara makroskopis dan mikroskopis untuk dapat menduga kelompok dari bakteri. Identifikasi makroskopis dilakukan dengan pengamatan terhadap bentuk, ukuran, warna, tepi, dan elevasi dari setiap koloni bakteri yang tumbuh. Hasil pengamatan morfologi isolat bakteri hidrokarbonoklastik yang diperoleh dari rizosfer lamun Desa Tunggul, Lamongan disajikan pada Tabel 4.2

Tabel 4.2 Hasil Identifikasi Isolat Bakteri Secara Makroskopis

Kode Isolat	Karakteristik Koloni				
	Ukuran	Bentuk	Warna	Tepi/Margins	Elevasi
RL 1	Sedang	Bulat	Putih	Entire	Flat
RL 2	Sedang	Bulat	Putih	Serrate	Flat
RL 3	Sedang	Irregular	Putih kekuningan	Lobate	Raised
RL 4	Sedang	Irregular	Putih	Undulate	Raised
RL 5	Sedang	Irregular	Putih	Lobate	Umbulate


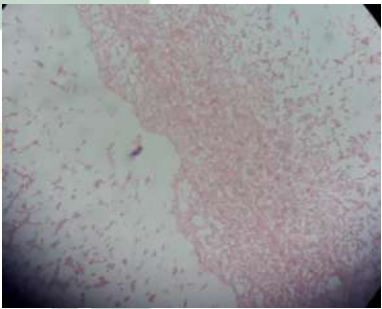
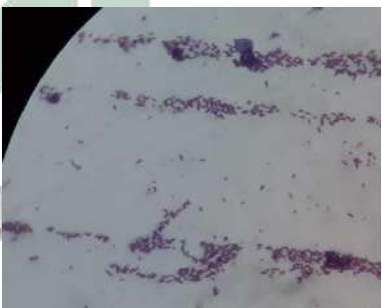
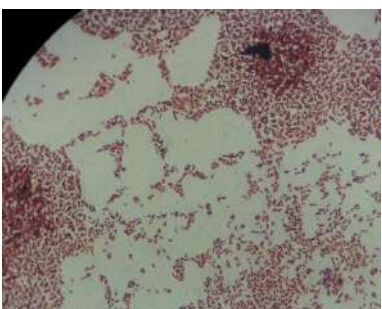
			kekuningan		
--	--	--	------------	--	--

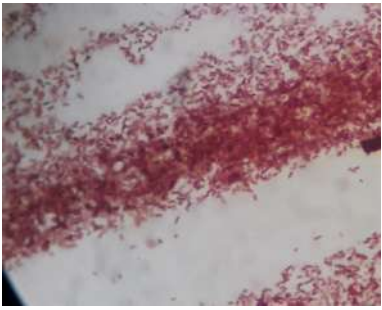
Sedangkan pengamatan mikroskopis yaitu pengamatan dari bentuk sel dan jenis gram bakteri yang dilakukan dengan pewarnaan gram. Berdasarkan Putri *et al.* (2017) pewarnaan gram akan menghasilkan dua kelompok bakteri yang terwarnai, yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif yang dibedakan oleh warna akibat struktur kimia pada dinding selnya. Bakteri gram positif saat diamati dibawah mikroskop akan menunjukkan warna ungu sebab mempertahankan zat warna dari kristal violet. Sedangkan untuk bakteri gram negatif ketika dicuci dengan alkohol/air akan kehilangan zat warna Kristal violet, sehingga saat diberi zat warna safranin, bakteri ini akan memberikan warna merah saat diamati dibawah mikroskop.

Berdasarkan hasil pewarnaan gram yang disajikan pada Tabel 4.3, Lima isolat yang diidentifikasi secara mikroskopis dengan menggunakan teknik pewarnaan gram menunjukkan bahwasannya semua isolat bakteri memiliki bentuk sel batang/basil, diantaranya 4 isolat merupakan bakteri dengan bentuk sel batang (basil) dengan gram negatif (-) yaitu isolat dengan kode RL1, RL2, RL4, RL5, dan satu isolat bakteri dengan kode RL3 bentuk sel berupa batang/basil dengan gram positif (+).

Tabel 4.3 Hasil Pewarnaan Gram Isolat Bakteri Pendegradasi Minyak Solar

Kode Isolat	Identifikasi Morfologi		Gambar
	Bentuk Sel	Jenis Gram	

Kode Isolat	Identifikasi Morfologi		Gambar
	Bentuk Sel	Jenis Gram	
RL 1	Basil	Gram negatif (-)	
RL 2	Basil	Gram negatif (-)	
RL 3	Basil	Gram positif (+)	
RL 4	Basil	Gram negatif (-)	

Kode Isolat	Identifikasi Morfologi		Gambar
	Bentuk Sel	Jenis Gram	
RL 5	Basil	Gram negatif (-)	

Secara spesifik hasil identifikasi morfologi secara makroskopis dan mikroskopis terhadap lima isolat bakteri yang ditemukan dijabarkan di bawah ini.

- **Isolat RL 1**

Isolat RL 1 tumbuh membentuk koloni yang berwarna putih berbentuk bulat (round) dengan tepi menyeluruh (entire/even), dan elevasi datar (flat). Bentuk sel isolat RL 1 adalah batang/basil dan tergolong bakteri gram negatif. Hasil identifikasi isolat RL 1 menunjukkan, bahwasannya isolat RL 1 diduga tergolong ke dalam genus bakteri **Klebsiella**.

Adapun klasifikasi dari genus *Klebsiella* adalah:

Divisi : Schizophyta

Kelas : Schizomyctes

Ordo : Eubacteriales

Famili : Enterobacteriaceae

Genus : *Klebsiella*

Klebsiella merupakan kelompok bakteri nonmotil, anaerobik fakultatif, dan gram negatif. Sel bakteri *Klebsiella* memiliki bentuk batang yang lurus dengan panjang 0,3-1,0 x 0,6-6,0 μm yang tersusun secara tunggal, berpasangan, hingga membentuk rantai pendek, dan memiliki kapsul. Bakteri ini dapat ditemukan di lingkungan perairan dan dapat

diiisolasi dari permukaan akar dari berbagai jenis tanaman (Boone, *et al.*, 2005).

Bakteri *Klebsiella* diketahui dapat ditemukan hidup pada lingkungan yang tercemar minyak bumi dan dapat mendegradasi senyawa hidrokarbon dari minyak bumi. Dalam penelitian Sayuti & Suratni (2015), bakteri *Klebsiella* teridentifikasi keberadaannya pada limbah cair minyak bumi. Sayuti *et al.* (2016) juga memperoleh bakteri *Klebsiella* jenis *Klebsiella sp.* dan *Klebsiella pneumoniae* yang berhasil diisolasi dari sampel fluida minyak bumi *gas boot* Riau. Selain itu Manalu *et al.* (2016) telah mengisolasi bakteri *Klebsiella* dari tanah yang tercemar Minyak Bumi dan mampu untuk bertahan hidup hingga konsentrasi hidrokarbon mencapai 250 ppm.

- **Isolat RL 2**

Isolat RL 2 memiliki koloni berwarna putih berbentuk bulat (round) dengan tepi serrate-tidak beraturan dan elevasinya datar (flat). Bentuk sel isolat RL 2 yaitu batang/basil dan dari kelompok bakteri gram negatif. Hasil identifikasi isolat RL 2 menunjukkan bahwasannya isolat RL 2 diduga merupakan bakteri genus ***Pseudomonas***.

Adapun klasifikasi dari genus *Klebsiella* adalah:

Divisi : Schizophyta

Kelas : Schizomycetes

Ordo : Pseudomonadales

Famili : Pseudomonadaceae

Genus : *Pseudomonas*

Pseudomonas merupakan kelompok bakteri aerobik, sebagian besar motil, dan termasuk bakteri gram negatif. Sel dari bakteri *Pseudomonas* berbentuk batang lurus atau sedikit melengkung tetapi tidak heliks dengan panjang 0,5-1,0 x 1,5-5,0 μm . Genus ini memiliki kemampuan tumbuh di berbagai jenis habitat bahkan di media dengan kandungan nutrisi yang

sangat rendah, hingga kadang-kadang mencapai batas tertentu (Boone, *et al.*, 2005).

Beberapa penelitian telah mendapatkan isolat dari bakteri *Pseudomonas* sebagai bakteri hidrokarbonoklastik, salah satunya yaitu pada penelitian yang dilakukan oleh Sayuti & Suratni (2015) mampu mengisolasi isolat bakteri *Pseudomonas* sebagai bakteri pendegradasi minyak dari limbah cair dari parit yang telah terkontaminasi minyak bumi.

- **Isolat RL 3**

Isolat RL 3 memiliki koloni berwarna putih kekuningan, bentuknya tidak beraturan (irregular) dengan tepi lobate-tidak beraturan dan elevasi timbul (raised). Bentuk sel isolat RL3 yaitu batang (basil) dari kelompok bakteri gram positif. Hasil identifikasi isolate RL3 menunjukkan genus bakteri **Bacillus**.

Adapun klasifikasi dari genus *Klebsiella* adalah:

Divisi : Schizophyta

Kelas : Schizomyctes

Ordo : Eubacteriales

Famili : Bacillaceae

Genus : Bacillus

Bakteri *Bacillus* menghasilkan berbagai macam kemampuan yang dapat dimanfaatkan. Kelompok bakteri *Bacillus* telah banyak diteliti manfaatnya sebagai bakteri bioremediasi karena kemampuannya dalam mendegradasi minyak bumi. Wardhani & Titah (2020) menyatakan bahwasannya kelompok bakteri dari genus *Bacillus* terbukti memiliki manfaat sebagai agen bioremediasi pada lingkungan yang tercemar minyak bumi. Hal tersebut apabila dimanfaatkan harus dengan tetap menerapkan penanganan awal (penanganan fisik kimia), serta memperhatikan faktor dan prosedur.

Beberapa penelitian telah memanfaatkan kemampuan bakteri *Bacillus*, diantaranya adalah Agnesia & Abda (2020) yang memanfaatkan

konsorsium indigenenous dari kelompok bakteri *Bacillus* untuk mengetahui adanya pengaruh bioaugmentasi dari bakteri hidrokarbonoklastik terhadap perubahan pH tanah. Selain itu Afianti *et al.* (2019) memperoleh kemampuan bakteri *Bacillus* yang didapat dari sedimen Mangrove dalam mendegradasi minyak mentah dan menurunkan senyawa toksik Polisiklik Aromatik Hidrokarbon (PAH). Shofiandi & Ratni (2021) dalam penelitiannya memanfaatkan bakteri *Bacillus* sebagai bioremediasi dengan biostimulasi untuk menurunkan nilai Total Petroleum Hidrokarbon (TPH). Penelitian Tuhuloula & Juliastuti (2020) memanfaatkan *Bacillus* jenis *Bacillus cereus* untuk mempelajari pengaruh konsentrasinya terhadap penurunan TPH, menggunakan metode Slurry Bioreactor.

- **Isolat RL 4**

Isolat RL 4, tumbuh membentuk koloni yang berwarna putih dengan bentuk tak beraturan (irregular), tepi undulate, dan elevasi timbul (raised). Bentuk sel isolat RL 4 yaitu batang/basil dan tergolong bakteri gram negatif. Hasil identifikasi menunjukkan bahwasannya isolat RL 4, diduga kelompok dari bakteri **Enterobacter**.

Adapun klasifikasi dari genus *Enterobacter* adalah:

Divisi : Schizophyta

Kelas : Schizomycetes

Ordo : Eubacteriales

Famili : Enterobacteriaceae

Genus : *Enterobacter*

Enterobacter merupakan kelompok bakteri anaerob fakultatif, motil, dan termasuk bakteri gram negatif. Sel bakteri *Enterobacter* berbentuk batang lurus dengan panjang 0,6-1,0 x 1,2-3,0 μm . Isolasi bakteri jenis ini dapat dilakukan dengan mudah bahkan hanya dengan menggunakan media biasa dan dapat tumbuh pada suhu 30-37°C.

Adapun beberapa penelitian yang telah berhasil memperoleh isolat bakteri Enterobacter sebagai bakteri pendegradasi minyak adalah penelitian Sayuti *et al.* (2017) yang telah mengisolasi bakteri Enterobacter dengan sumber hidrokarbon dari 2% bensin dan solar. Penelitian lainnya dari Kamallia *et al.* (2021) memperoleh isolat bakteri Enterobacter yang mampu menghasilkan biosurfaktan sebagai pendegradasi minyak di lingkungan tercemar dari limbah cair tahu.

- **Isolat RL 5**

Isolat Isolat RL5 memiliki koloni berwarna putih kekuningan, bentuknya tidak beraturan (irregular), tepi koloni lobate/tidak beraturan, dan elevasi muncul ditengah seperti tombol (umbonate). Bentuk sel isolat RL 5 yaitu batang/basil dari kelompok bakteri gram negatif. Hasil identifikasi isolat RL5 menunjukkan bahwasannya isolat ini diduga merupakan bakteri genus **Sporosarcina**.

Adapun klasifikasi dari genus Klebsiella adalah:

Divisi : Bacteria

Kelas : Firmicutes

Ordo : Bacilli

Famili : Bacillales

Genus : Sporosarcina

Genus ini termasuk kedalam kelompok bakteri anaerob fakultatif, motil, dan menghasilkan spora. Sporosarcina dapat ditemukan pada air laut, tumbuhan, maupun lingkungan yang tercemar hidrokarbon. Bakteri sporosarcina telah teridentifikasi dalam penelitian Hardestyariki *et al.* (2013) yang ditemukan dari rhizosfer tanaman dominan yang berada di lahan penambangan minyak dan berpotensi menjadi agen bioremediasi.

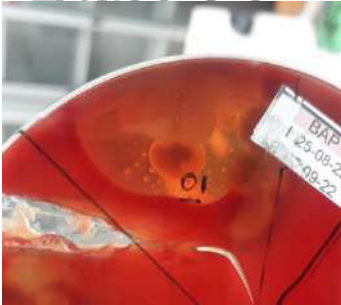
4.3 Uji Pendugaan Hemolisis


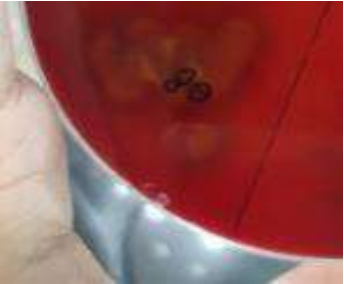


Pengujian tambahan yaitu dengan uji hemolisis isolat murni dengan menggunakan media *Blood Agar Plate* (BAP). Isolat murni digoreskan pada

blood agar dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 72 jam. Pengujian ini dilakukan sebagai perolehan data mengenai kemampuan isolat dalam mendegradasi minyak bumi, termasuk jenis solar. Nurdin (2016) menyatakan bahwasannya zona bening akan terbentuk di area koloni yang memiliki kemampuan menghasilkan biosurfaktan. Biosurfaktan merupakan senyawa yang bersifat ampipilik yang diperoleh dari hasil metabolisme sel mikroorganisme (bakteri/fungi), atau dari bahan alam yang melalui suatu proses kimia yang dapat mengemulsikan dua fluida yang tidak dapat bercampur dengan cara menurunkan tegangan pada permukaannya (Reningtyas & Mahreni, 2015).

Terjadinya aktivitas hemolisin oleh bakteri ditandai dengan terbentuknya zona hemolisin/ zona bening pada plat *blood agar*. Terdapat 3 jenis hemolisin yang terbentuk, yaitu: *alfa*-hemolisin (α), *beta*-hemolisin (β), dan *gama*-hemolisin (γ). *Alfa*-hemolisin (α) ditandai dengan terbentuknya zona terang disekitar koloni. Untuk *beta*-hemolisin (β) akan terbentuk zona yang cenderung agak gelap di sekitar koloni, sedangkan *gama*-hemolisin (γ) tidak adanya zona hemolisis yang terbentuk disekitar koloni (Khusnan *et al.*, 2008).

Tabel 4.4 Hasil Uji Hemolisis pada Media Blood Agar

Isolat	Tipe Hemolisis	Gambar
Klebsiella	β hemolysis	

Isolat	Tipe Hemolisis	Gambar
Pseudomonas	β hemolysis	
Bacillus	β hemolysis	
Enterobacter	β hemolysis	
Sporosarcina	α hemolysis	

Pengujian hemolisis memiliki prinsip yaitu koloni bakteri yang diinokulasikan pada media blood agar mengalami perubahan warna dan disekitarnya terbentuk zona bening (Setiani, *et al.*, 2020). Berdasarkan hasil dari

uji hemolisis pada blood agar dari lima sampel isolat bakteri yang disajikan pada Tabel 4.4, menunjukkan seluruh sampel mampu menghemolisis sel darah merah pada media Blood agar, sehingga menghasilkan zona bening di sekitar koloni. Adapun empat isolat dari isolat murni dari bakteri *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter* menghasilkan tipe β -hemolisis, dan bakteri *Sporosarcina* menghasilkan tipe α -hemolisis. Ibrahim (2016) menyatakan bahwa berkembangnya zona bening (hemolisis) di sekitar bakteri mengindikasikan kemungkinan produksi biosurfaktan.

Hasil tersebut menunjukkan seluruh isolat bakteri memiliki kemampuan dalam menghasilkan biosurfaktan sebagai pengemulsifikasi minyak, Sehingga dalam langkah selanjutnya dilakukan pengujian lebih lanjut untuk mengetahui tingkat kemampuan isolat bakteri dalam mendegradasi minyak solar.

4.4 Uji Kemampuan Degradasi Minyak Solar

Uji kemampuan degradasi minyak solar yang diamati meliputi: perubahan media dan minyak secara visual, perubahan pH, nilai pertumbuhan bakteri, dan persentase biodegradasi minyak solar. Lima isolat yang telah diidentifikasi diduga merupakan kelompok isolat dari bakteri *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter*, dan *Sporosarcina*. Masing-masing isolat bakteri dilakukan pengujian terhadap kemampuannya sebagai agen bioremediasi cemaran minyak solar.

4.4.1 Pengamatan Visual, Perubahan pH, Media dan Minyak

Pengamatan terhadap perubahan yang terjadi pada media dan minyak solar secara visual, dan perubahan pH yang terjadi akibat adanya degradasi oleh isolat bakteri *Klebsiella* disajikan pada Tabel 4.5 dan Lampiran 3. Selama 7 hari pengamatan, media mulai sedikit keruh pada hari pertama dan kondisi minyak solar mulai teremulsifikasi dan terdegradasi pada hari ke-2. PH pada media mulai mengalami penurunan menjadi 6 pada hari ke-5 pengamatan.

Tabel 4.5 Hasil Biodegradasi Minyak Solar oleh Bakteri Klebsiella Secara Visual

Waktu Pengamatan	Perubahan		
	Media	Minyak Solar	PH
Hari ke-1	Mulai sedikit keruh	Terlihat masih sama seperti kondisi awal	7
Hari ke-2	Sedikit keruh	Sedikit terurai di bagian tengah	7
Hari ke-3	Sedikit keruh	Bagian tengah mulai terurai	7
Hari ke-4	Keruh	Bagian tengah sebagian besar telah terurai dan meysisakan sisa di tepi	7
Hari ke-5	Keruh	Sebagian terurai menjadi gumpalan dan masih terlihat lapisannya	6
Hari ke-6	Sangat keruh, putih pekat kecoklatan	Minyak terurai, membentuk gumpalan	6
Hari ke-7	sangat keruh, putih pekat kecoklatan	Minyak terurai, membentuk gumpalan dan butiran hitam di tepi dan menempel di dinding kaca	6

Pengamatan terhadap perubahan yang terjadi pada media dan minyak solar secara visual, dan perubahan pH yang terjadi akibat adanya degradasi oleh isolat bakteri *Pseudomonas* disajikan pada Tabel 4.6 dan Lampiran 4. Selama 7 hari pengamatan, media mulai keruh dan kondisi minyak solar mulai teremulsifikasi dan terdegradasi sejak hari pertama. PH media mula-mula berada pada nilai 7 yang artinya netral, akan tetapi pada hari ke-3, pH mengalami penurunan menjadi 6.

Tabel 4.6 Hasil Biodegradasi Minyak Solar oleh Bakteri Pseudomonas Secara Visual

Waktu Pengamatan	Perubahan		
	Media	Minyak Solar	PH
Hari ke-1	Sedikit keruh	Bagian tengah mulai terurai	7
Hari ke-2	keruh	Terurai menjadi gumpalan dan berkumpul di tepi	7
Hari ke-3	Sangat keruh, putih pekat	Lapisan minyak terurai membentuk seperti gumpalan di tepi dan menempel di dinding	6
Hari ke-4	Sangat keruh, putih pekat	Minyak terurai membentuk gumpalan dan butiran hitam menempel di dinding	6
Hari ke-5	Sangat keruh, putih pekat kecoklatan	Tidak terlihat lagi lapisan minyak, terdapat butiran hitam menempel di dinding	6
Hari ke-6	Sangat keruh, putih pekat kecoklatan	Minyak terurai sempurna, terdapat butiran hitam menempel di dinding	6
Hari ke-7	Sangat keruh, putih pekat	Minyak terurai sempurna, terdapat butiran hitam menempel di dinding	6

Pengamatan terhadap perubahan yang terjadi pada media dan minyak solar secara visual, dan perubahan pH yang terjadi akibat adanya degradasi oleh isolat bakteri *Bacillus* disajikan pada Tabel 4.7 dan Lampiran 5. Selama 7 hari pengamatan, media mulai terlihat keruh dan kondisi minyak solar pun mulai terdegradasi pada hari ke-1 pengamatan. PH media mengalami penurunan bahkan ketika pengamatan hari ke-2.

Tabel 4. 7 Hasil Biodegradasi Minyak Solar oleh Bakteri Bacillus Secara Visual

Waktu Pengamatan	Perubahan		
	Media	Minyak Solar	PH
Hari ke-1	Sedikit keruh	Minyak terdegradasi jumlah kecil dan masih terlihat dalam jumlah sama	7
Hari ke-2	Keruh	Lapisan bagian tengah terurai	6
Hari ke-3	Sangat keruh, putih pekat	Minyak terurai menjadi gumpalan	6
Hari ke-4	Sangat keruh, putih pekat	Minyak terdegradasi dan terdapat sisa minyak berupa butiran coklat di tepi	6
Hari ke-5	Sangat keruh, putih pekat kecoklatan	Terurai membentuk gumpalan, terdapat butiran sisa minyak berwarna hitam menempel di dinding	6
Hari ke-6	Sangat keruh, putih pekat kecoklatan	Lapisan minyak terlihat terdegradasi sempurna	6
Hari ke-7	Sangat keruh, putih pekat	Lapisan minyak terlihat terdegradasi sempurna	6

Pengamatan terhadap perubahan yang terjadi pada media dan minyak solar secara visual, dan perubahan pH yang terjadi akibat adanya degradasi oleh isolat bakteri *Enterobacter* disajikan pada Tabel 4.8 dan Lampiran 6. Selama 7 hari pengamatan, media mulai terlihat sedikit keruh dan minyak solar terdegradasi sejak hari pertama pengamatan. PH pada media juga mengalami penurunan pada hari ke-3 pengamatan.

Tabel 4.8 Hasil Biodegradasi Minyak Solar oleh Bakteri Enterobacter Secara Visual

Waktu Pengamatan	Perubahan		
	Media	Minyak Solar	PH
Hari ke-1	Sedikit keruh	Terurai sedikit di bagian tengah	7
Hari ke-2	Mulai keruh	Lapisan minyak di tengah mulai terurai membentuk gumpalan	7
Hari ke-3	Keruh	Warna minyak menjadi lebih gelap	6
Hari ke-4	Sangat keruh, putih pekat	Lapisan minyak terurai dan membentuk gumpalan	6
Hari ke-5	Sangat keruh, putih pekat	Minyak terdegradasi seluruhnya dan terdapat butiran hitam yang menempel pada dinding	6
Hari ke-6	Sangat keruh, putih pekat kecoklatan	Seluruh minyak terdegradasi dan masih menyisakan fase minyak yang telah teremulsifikasi	6
Hari ke-7	Sangat keruh, putih pekat	Seluruh minyak terdegradasi dan masih menyisakan fase minyak yang telah teremulsifikasi	6

Pengamatan terhadap perubahan yang terjadi pada media dan minyak solar secara visual, dan perubahan pH yang terjadi akibat adanya degradasi oleh isolat bakteri *Sporosarcina* disajikan pada Tabel 4.9 dan Lampiran 7. Selama 7 hari pengamatan, media mulai sedikit keruh pada hari pertama dan kondisi minyak solar mulai teremulsifikasi dan terdegradasi pada hari ke-2. PH media mula-mula berada pada nilai 7 yang artinya netral, akan tetapi pada hari ke-6 pengamatan, nilai pH telah mengalami penurunan.

Tabel 4.9 Hasil Biodegradasi Minyak Solar oleh Bakteri Sporosarcina Secara Visual

Pengamatan	Perubahan		
	Media	Minyak Solar	PH
Hari ke-1	Sedikit keruh	Terlihat masih sama seperti kondisi awal	7
Hari ke-2	Keruh	Minyak terdegradasi jumlah kecil dan masih terlihat dalam jumlah sama	7
Hari ke-3	Keruh	Mulai terurai di bagian tengah	7
Hari ke-4	Sangat keruh, putih pekat	Bagian tengah mulai terurai dan membentuk gumpalan	7
Hari ke-5	Sangat keruh, putih pekat	Terurai membentuk gumpalan	7
Hari ke-6	Sangat keruh, putih pekat	Terurai membentuk gumpalan	6
Hari ke-7	Sangat keruh, putih pekat	Terurai membentuk gumpalan di tepi	6

Berdasarkan hasil pengamatan saat berlangsungnya biodegradasi terhadap minyak solar oleh 5 isolat yang teridentifikasi, yaitu: Klebsiella, Pseudomonas, Bacillus, Enterobacter, dan Sporocina, semua isolat terbukti memiliki kemampuan dalam mendegradasi minyak solar dan dapat menjadi agen bioremediasi lingkungan yang tercemar polutan minyak. Kelima isolat tersebut mampu bertahan hidup dengan tumbuh pada media BHMS cair yang ditambahkan minyak solar sebagai sumber karbon untuk bakteri hidrokarbonoklastik. Hasyimuddin *et al.* (2016) menyatakan bahwasannya bakteri memiliki kemampuan dalam mendegradasi minyak solar, karena menghasilkan suatu enzim yang berfungsi menguraikan senyawa organik kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana, seperti enzim monoksigenase dan dioksigenase yang memiliki kemampuan memecah ikatan karbon pada cincin aromatik dan menghasilkan alkohol primer. Hasil yang diperoleh dari pengamatan secara visual setiap harinya selama 7 hari lamanya, yaitu kekeruhan media, perubahan fase minyak solar, dan perubahan pH.

a) Kekeruhan

Selama 7 hari pengamatan yang dilakukan setiap harinya, hasil pengamatan secara visual terhadap media pertumbuhan mengalami peningkatan kekeruhan yang terjadi. Dari lima isolat yang diuji, menunjukkan semua media pertumbuhan masing-masing isolat mengalami peningkatan kekeruhan bahkan mulai hari pertama pengamatan. Berdasarkan Damayanti *et al.* (2018), tingkat kekeruhan pada media pertumbuhan bakteri menandakan bahwasannya semakin keruh maka bakteri mampu bertahan dan berkembang biak.

Seluruh media mulai mengalami kekeruhan hingga menjadi putih pekat. Hal tersebut sama dengan hasil pada penelitian yang dilakukan oleh Syafitri *et al.* (2022) yaitu media bakteri yang awalnya bening menjadi putih susu. Hal tersebut terjadi sebab bakteri telah masuk kedalam fase pertumbuhan dan berkembangbiakan cepat dan dalam jumlah yang banyak. Selain itu, metabolit sekunder dan sisa metabolisme bakteri yang terbentuk menjadi penyebab meningkatnya kekeruhan pada media.

b) Perubahan fase minyak solar

Minyak solar yang ditambahkan pada media mula-mula menyatu dan menyabar secara merata pada lapisan permukaan media. Setelah beberapa hari pengamatan, kondisi lapisan minyak mulai mengalami degradasi setiap harinya. Lapisan minyak diatas media cair mengalami emulsifikasi dan membentuk gumpalan hingga butiran-butiran. Berdasarkan hasil pengamatan diatas, minyak mengalami degradasi dan mengubah fase minyak solar terjadi karena adanya aktivitas dari isolat bakteri yang ditambahkan. Bakteri memanfaatkan minyak solar sebagai sumber karbon untuk dapat bertahan hidup. Bakteri akan memecah rantai karbon pada minyak solar sehingga minyak dapat pecah dan terdegradasi. Sesuai dengan pernyataan Syafitri *et al.* (2022), bahwasannya lapisan minyak yang berubah menjadi butiran disebabkan adanya aktivitas biodegradasi yang terjadi yaitu bakteri

mampu menghasilkan biosurfaktan untuk memecah lapisan minyak menjadi lebih kecil.

c) Perubahan pH

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan selama 7 hari, mula-mula pH media memiliki kisaran nilai 7. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Andareas (2019) mengenai nilai pH antara 7 - 7,5 merupakan kondisi optimum pH dalam mendegradasi minyak solar. Seluruh hasil menunjukkan bahwasannya nilai pH mengalami penurunan menjadi 6 dengan waktu yang berbeda-beda. Nilai pH turun menjadi 6 pada isolat *Klebsiella* terjadi saat pengamatan di hari ke-5. Untuk *Pseudomonas* dan *Enterobacter* terjadi di hari 3. Isolat *Bacillus* termasuk tercepat diantara lainnya yaitu nilai pH turun pada pengamatan hari ke-2. Adapun isolat bakteri *Sporosarcina* nilai pH mulai turun dihari ke-6 pengamatan. Berdasarkan Sulistyorini & Ali (2018), perubahan nilai pH terjadi akibat adanya proses dekomposisi material organik yang dapat menghasilkan senyawa asam organik dan dapat merubah pH menjadi asam/ pH mengalami penurunan.

4.4.2 Pertumbuhan Bakteri pada Media

Bakteri merupakan makhluk hidup yang memiliki kemampuan untuk tumbuh dan berkembang biak sebelum akhirnya bakteri akan mati. Terdapat berbagai macam faktor yang perlu diperhatikan untuk dapat menumbuhkan bakteri salah satunya media yang digunakan sebagai substrat pertumbuhannya. Media pertumbuhan dapat digunakan sebagai substrat dalam menumbuhkan bakteri dalam skala laboratorium karena mengandung nutrisi dan didesign untuk memperoleh suatu spesies bakteri yang diinginkan dengan menghambat tumbuhnya mikroba lainnya (Putri. 2021).

Pengukuran pertumbuhan bakteri pada penelitian ini dipresentasikan melalui kurva pertumbuhan bakteri untuk mengetahui kemampuan bakteri dapat tumbuh pada media miskin nutrisi dengan

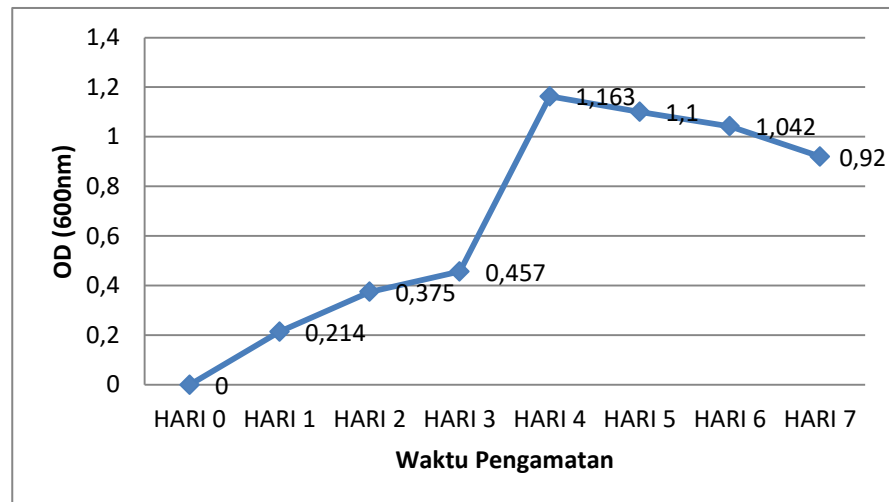
kandungan minyak solar sebagai satu-satunya sumber karbon didalamnya. Setiawati *et al.* (2014) menyatakan bahwa fase pertumbuhan bakteri dapat diamati melalui kurva pertumbuhannya. Transisi fase perkembangan dari satu fase ke fase lainnya terlihat pada perubahan kemiringan kurva. Terdapat empat fase yang dapat dipisahkan pada kurva pertumbuhan bakteri dan juga sebagai gambaran kondisi suatu bakteri. Empat fase tersebut yaitu: fase lag (lamban), fase eksponensial (pertumbuhan cepat), fase stationer (statis), dan fase decline (penurunan populasi). Prayitno & Sopiah (2016) dalam penelitiannya juga menggunakan panjang gelombang 600 nm untuk mengukur pertumbuhan bakteri pendegradasi yang berasal dari area pertambangan minyak. Intensitas pertumbuhan kultur bakteri diukur berdasarkan kerapatan optik/*optical density* (OD) menggunakan alat spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm (Welan *et al.*, 2019)

1. Kurva Pertumbuhan Isolat Genus Klebsiella

Klebsiella merupakan genus bakteri dari kelompok lipolitik yang memiliki kemampuan dalam menghidrolisis lipid dan dapat ditemukan di salah satu habitatnya, yaitu di tanah. Laju pertumbuhan genus Klebsiella yang berpotensi dapat mendegradasi minyak solar disajikan dalam bentuk kurva pada Gambar 4.3.

Hasil pengamatan pertumbuhan bakteri Klebsiella menunjukkan bahwasannya pada fase lag atau bakteri beradaptasi dengan media BHMS + minyak solar membutuhkan waktu yang relatif singkat, sehingga pada inkubasi selama 24 jam terjadi peningkatan kekeruhan dengan nilai OD (absorbansi) sebesar 0,214. Pertumbuhan bakteri Klebsiella menunjukkan bahwasannya genus bakteri ini dapat tumbuh dan berkembang biak pada media BHMS + minyak solar dan memanfaatkannya sebagai sumber karbon sebagai nutrisinya. Nilai OD (absorbansi) terus mengalami peningkatan setiap

24 jamnya sampai dengan pengamatan hari ke 4 yang menunjukkan nilai OD (absorbansi) tertinggi yaitu sebesar 1,163.



Gambar 4.3 Kurva Pertumbuhan Bakteri Klebsiella

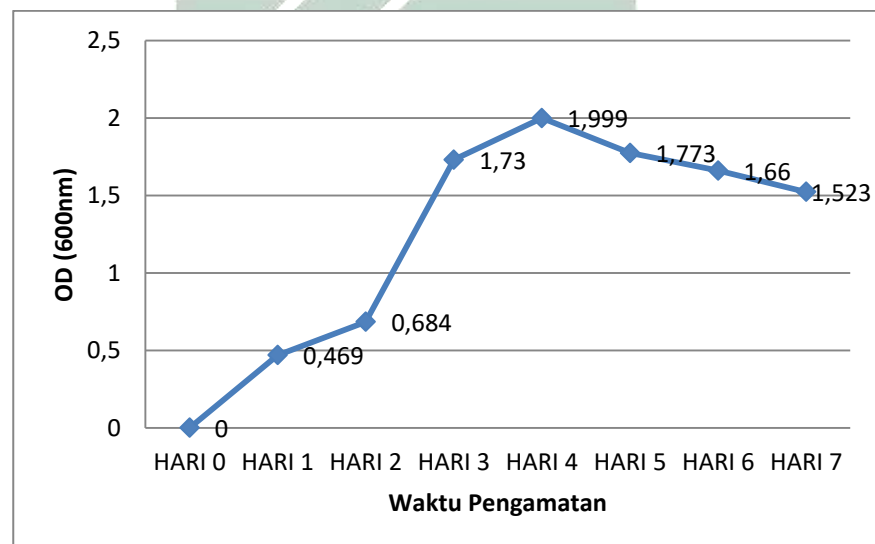
Genus *Klebsiella* selama 3 hari pertumbuhan memasuki fase eksponensial. Pengamatan hari ke-2 dan ke-3 laju pertumbuhan bakteri terjadi secara statis. Nilai OD (absorbansi) pada hari ke-3 menunjukkan nilai sebesar 0,375, dan dilanjutkan 24 jam setelahnya yaitu pada hari ke-3 menunjukkan nilai OD (absorbansi) sebesar 0,457. Memasuki pengamatan hari ke-4, nilai OD (absorbansi) mengalami peningkatan yang tajam hingga mencapai nilai 1,163. Peningkatan nilai OD pada fase ini menunjukkan bahwasannya bakteri *Klebsiella* telah mampu beradaptasi pada media dan melakukan pertumbuhan secara cepat dengan membelah setiap selnya menjadi dua.

Inkubasi hari ke-5 pertumbuhan bakteri *Klebsiella* memasuki fase stationer (konstan). Pada fase tersebut terjadi persamaan antara laju pertumbuhan dengan laju kematiannya karena pembelahan bakteri mengalami kemunduran. Nutrisi pada media pertumbuhan juga telah berkurang dan terjadi penumpukan zat beracun. Nilai OD (absorbansi) isolat bakteri *Klebsiella* pada hari ke-5 sebesar 1,100. Pada pengamatan selanjutnya fase pertumbuhan bakteri dilanjutkan pada

fase kematian. Sehingga pada pengamatan hari ke-6 dan ke-7 nilai OD (absorbansi) bakteri Klebsiella mengalami penurunan yaitu sebesar 1,042 dan 0,920. Penurunan tingkat pertumbuhan bakteri disebabkan karena jumlah nutrisi yang tersedia pada media telah habis digunakan oleh bakteri, sehingga kebutuhan nutrisi yang dibutuhkan untuk dapat tumbuh dan berkembang tidak tersedia.

2. Kurva Pertumbuhan Isolat Genus Pseudomonas

Kurva pertumbuhan bakteri Pseudomonas pada media BHMS + minyak solar 2% yang telah diamati disajikan pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Kurva Pertumbuhan Bakteri Pseudomonas

Hasil pengamatan selama 24 jam yaitu pada hari pertama, media BHMS + minyak mengalami peningkatan kekeruhan dengan nilai OD (absorbansi) sebesar 0,469, hal ini menunjukkan terjadinya pertumbuhan bakteri Pseudomonas pada media tersebut dan memanfaatkan minyak solar sebagai sumber karbon. Genus Pseudomonas dapat beradaptasi secara baik pada media ini, sehingga fase lag yang dibutuhkan oleh bakteri Pseudomonas memerlukan waktu yang relatif cukup pendek.

Selama 2 hari pengamatan yaitu pada hari ke-2 dan hari ke-3, bakteri Pseudomonas berada pada fase eksponensial. Setelah 48 jam

atau saat pengamatan pada hari ke-2, tingkat kekeruhan meningkat dan nilai OD (absorbansi) bernilai 0,684. Selanjutnya nilai OD (absorbansi) mengalami peningkatan secara tajam pada pengamatan hari ke-3 yaitu sebesar 1,73. Peningkatan nilai OD menunjukkan bahwasannya bakteri *Pseudomonas* dapat hidup dan tumbuh pada media BHMS yang ditambah solar, sehingga bakteri *Pseudomonas* memanfaatkan minyak solar sebagai sumber karbon untuk nutrisi pertumbuhannya.

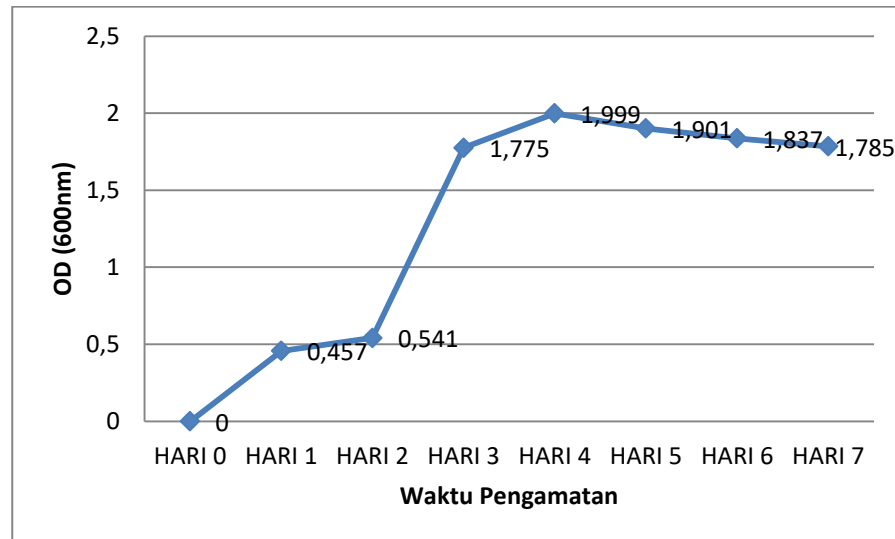
Pengamatan hari ke-4 pertumbuhan bakteri *Pseudomonas* berada pada nilai OD (absorbansi) tertinggi sebesar 1,999. Nilai OD (absorbansi) pada hari selanjutnya, yaitu pada pengamatan hari 5 mengalami penurunan menjadi 1,773. Pertumbuhan bakteri *Pseudomonas* mengalami fase stationer pada saat itu. Penumpukan zat sisa dan beracun yang terdapat pada media menyebabkan penghambatan pada proses pertumbuhan bakteri. Nutrisi pada media yang dibutuhkan oleh bakteri *Pseudomonas* akan habis dan mengakibatkan bakteri mati hingga mengalami penurunan jumlah. Sehingga sisa hari pengamatan yaitu pada hari ke-6 hingga 7 nilai OD (absorbansi) mengalami penurunan mencapai 1,523.

3. Kurva Pertumbuhan Isolat Genus *Bacillus*

Kurva pertumbuhan bakteri *Bacillus* pada media BHMS + minyak solar 2% yang telah diamati selama 7 hari disajikan pada Gambar 4.5.

Kurva (Gambar 4.5) menunjukkan bahwasanya pada pengamatan hari pertama laju kurva pertumbuhan Bakteri *Bacillus* pada media BHMS + minyak solar mengalami peningkatan nilai OD (absorbansi) sebesar 0,457. Pada pengamatan pertumbuhan bakteri *Bacillus* menunjukkan bahwa fase lag yang dialami memerlukan waktu yang cukup pendek pada media pertumbuhan BHMS+ minyak solar, sehingga bakteri *Bacillus* memiliki kemampuan untuk dapat

tumbuh dan memanfaatkan sumber karbon berupa minyak solar sebagai nutrisinya.



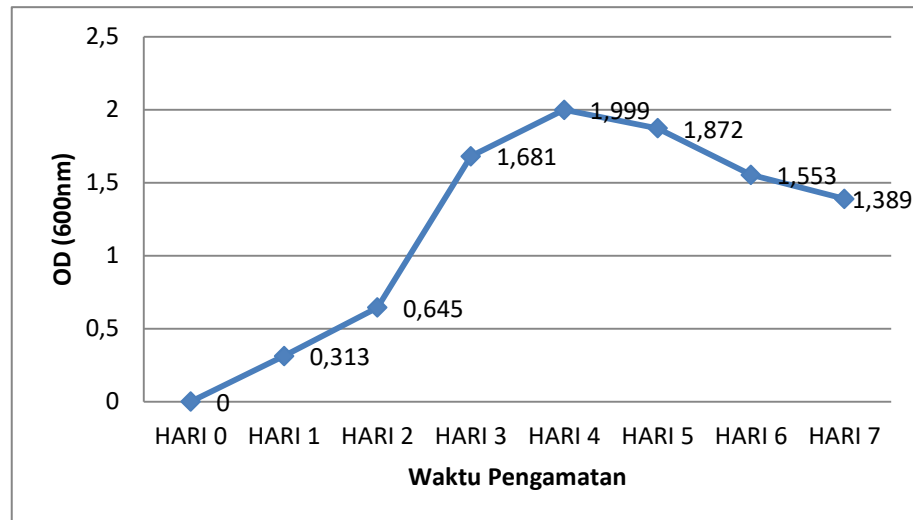
Gambar 4.5 Kurva Pertumbuhan Bakteri Bacillus

Fase eksponensial bakteri Bacillus terjadi selama 2 hari, yaitu terlihat saat pengamatan hari ke- 2 dengan nilai OD (absorbansi) sebesar 0,541, dan pada pengamatan selanjutnya pada hari ke-3 meningkat secara tajam pada nilai OD (absorbansi) 1,775. Bakteri Bacillus telah beradaptasi pada lingkungan media miskin nutrisi, BHMS yang ditambah minyak solar sebagai satu-satunya sumber karbon bagi bakteri Bacillus.

Pengamatan hari ke- 4 hingga hari ke- 5 bakteri Bacillus telah berada pada fase stationer. Fase ini terjadi karena nutrisi mulai berkurang dan produk beracun mengalami penumpukan. Sehingga, pertumbuhan dan kematian bakteri Bacillus pada laju yang sama. Nilai OD (absorbansi) pada pengamatan hari ke- 4 menunjukkan nilai sebesar 1,999 dan pada pengamatan hari selanjutnya turun dengan nilai OD sebesar 1,901. Selanjutnya pada pengamatan hari ke-6 dan 7 nilai OD terus mengalami penurunan dengan laju statis sebesar 1,837 dan 1,785

4. Kurva Pertumbuhan Isolat Genus Enterobacter

Kurva pertumbuhan bakteri Enterobacter pada media BHMS + minyak solar 2% yang telah diamati disajikan pada Gambar 4.6



Gambar 4. 6 Kurva Pertumbuhan Bakteri Enterobacter

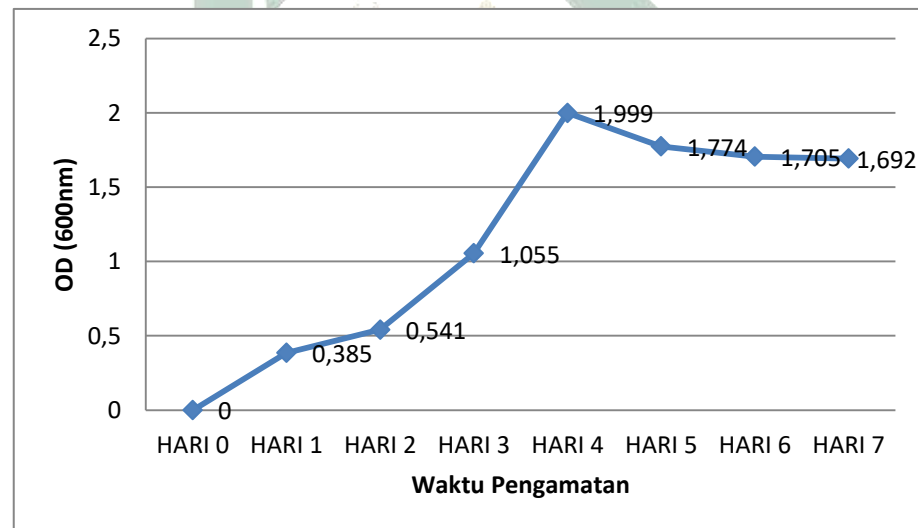
Hasil pengamatan laju pertumbuhan bakteri Enterobacter pada media BHMS + minyak solar terjadi peningkatan kekeruhan dengan nilai OD (absorbansi) sebesar 0,313. Pertumbuhan bakteri Enterobacter pada fase lag membutuhkan waktu relatif singkat untuk dapat beradaptasi pada media BHMS + minyak solar.

Setelah bakteri Enterobacter dapat beradaptasi pada media pertumbuhannya, bakteri akan tumbuh dan berkembang biak dengan memanfaatkan nutrisi yang terkandung pada media BHMS dan sumber karbon yang berasal dari minyak solar. Fase eksponensial pada pertumbuhan bakteri Enterobacter terjadi selama 2 hari, yaitu saat pengamatan hari ke- 2, dengan nilai OD (absorbansi) meningkat menjadi 0,645 dan meningkat kembali secara signifikan pada pengamatan hari ke- 4 sebesar 1,681. Peningkatan nilai OD (absorbansi) masih terjadi pada saat pengamatan hari ke-4 dan menjadi puncak yaitu sebesar 1,999.

Pengamatan pertumbuhan bakteri Enterobacter berada pada fase kematian, yaitu ditandai dengan menurunnya nilai OD (absorbansi). Fase kematian terjadi karena nutrisi dan sumber karbon yang sebelumnya tersedia telah habis dimanfaatkan. Pengamatan pertumbuhan bakteri Enterobacter pada hari ke- 6 menunjukkan penurunan nilai OD (absorbansi) menjadi 1,553 dan terus menurun dengan laju statis pada hari ke- 7 yaitu sebesar 1,389.

5. Kurva Pertumbuhan Isolat Genus Sporosarcina

Laju pertumbuhan Bakteri Sporosarcina yang berpotensi dapat mendegradasi minyak solar disajikan dalam bentuk kurva pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7 Kurva Pertumbuhan Bakteri Sporosarcina

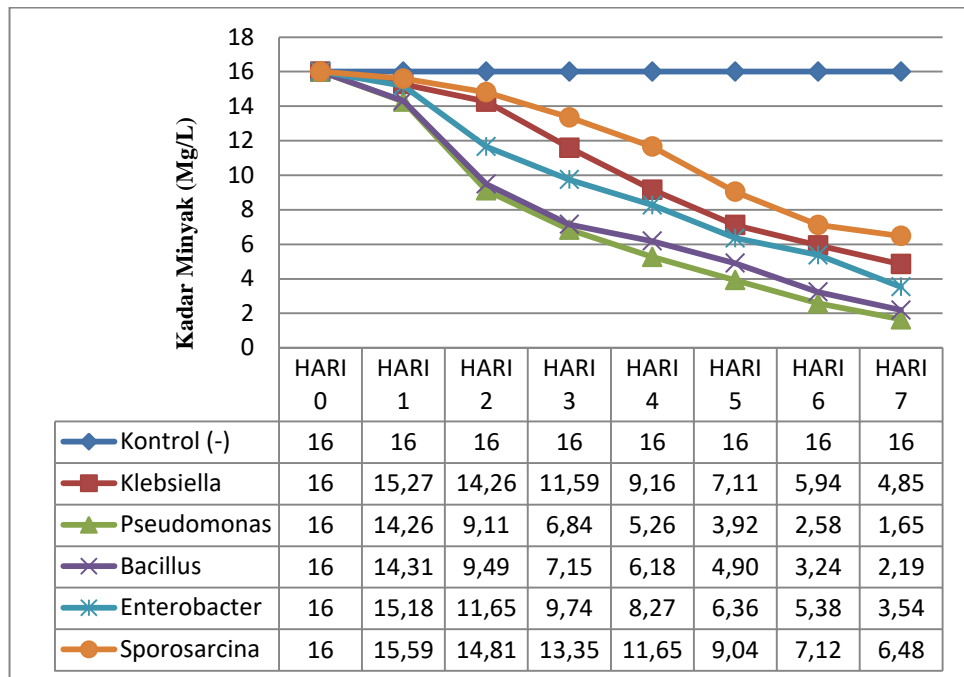
Hasil pengamatan pada hari pertama menunjukkan bahwasannya laju pertumbuhan bakteri Sporosarcina terjadi peningkatan kekeruhan dengan nilai OD (absorbansi) sebesar 0,385. Fase lag yang terjadi pada pertumbuhan bakteri ini memerlukan waktu adaptasi pada media BHMS + minyak solar yang relatif pendek. Hal tersebut berarti bakteri Sporosarcina dapat aktif dan tumbuh pada lingkungan yang mengandung minyak solar, sehingga bakteri dapat mendegradasi minyak solar.

Fase eksponensial pada pertumbuhan bakteri *Sporosarcina* terjadi selama 3 hari, yaitu pada pengamatan hari ke- 2 nilai OD (absorbansi) sebesar 0,541 dan selanjutnya meningkat secara tajam sehingga pada pengamatan hari ke- 3 dan ke- 4 kekeruhan dan nilai OD (absorbansi) mengalami peningkatan berturut-turut sebesar 1,055 menjadi 1,999. Pertumbuhan bakteri *Sporosarcina* dapat mengalami peningkatan karena telah mampu beradaptasi pada fase sebelumnya, Sehingga bakteri *Sporosarcina* dapat bertumbuh pesat dengan memanfaatkan sumber karbon dari minyak solar.

Pengamatan hari selanjutnya, yaitu hari ke- 5, pertumbuhan bakteri *Sporosarcina* telah mengalami penurunan nilai OD (absorbansi) menjadi 1,774. Bakteri *Sporosarcina* diperkirakan telah memasuki fase kematian akibat telah berkurangnya nutrisi yang dibutuhkan. Penurunan nilai OD (absorbansi) pada pertumbuhan bakteri *Sporosarcina* terus berlanjut dengan laju statis pada hari ke-6 dan ke-7 yaitu masing masing memiliki nilai OD sebesar 1,705 dan 1,692 .

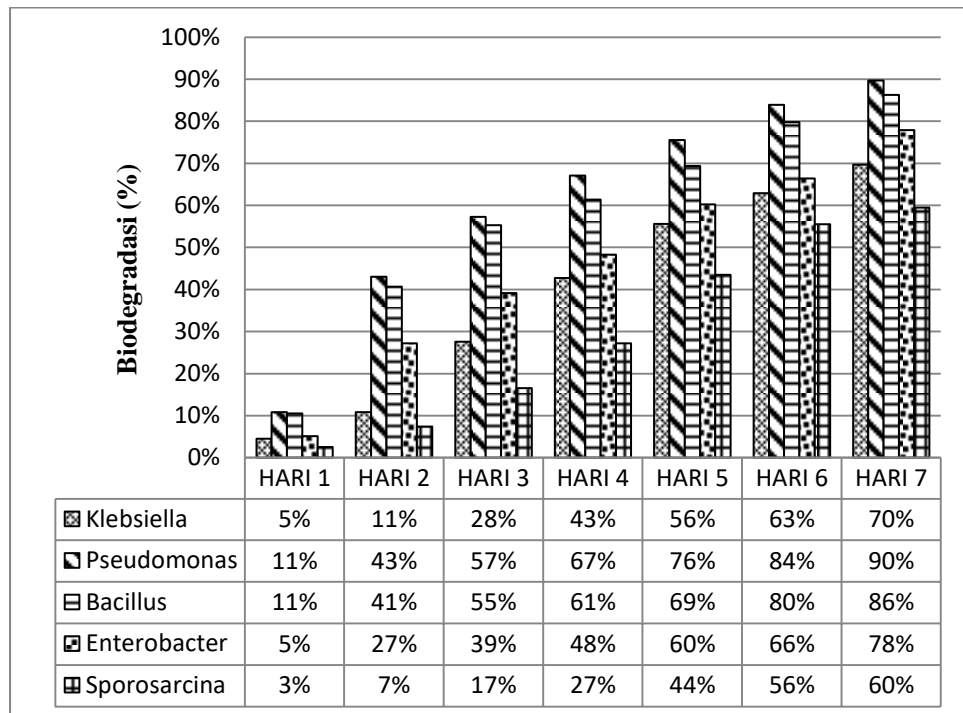
4.4.3 Biodegradasi Minyak Solar

Potensi bakteri dalam biodegradasi minyak solar diketahui melalui pertumbuhan bakteri pada media pengamatan dan kemampuannya dalam menurunkan jumlah kadar minyak solar. Gambar 4.8 menunjukkan hasil uji biodegradasi tiap isolat terhadap minyak solar yang diperoleh dari menghitung kadar minyak sisa menggunakan analisis gravimetri.



Gambar 4.8 Grafik Kadar Sisa Minyak Solar Hasil Degradasi oleh Bakteri

Pengujian kemampuan isolat bakteri dalam biodegradasi minyak solar diperoleh hasil yang berbeda tiap isolatnya. Berdasarkan Gambar 4.8 dari 5 jenis isolat yang ditemukan menunjukkan kemampuannya dalam mendegradasi minyak solar. Jumlah mula-mula minyak solar yang tersedia pada media sebesar 16 mg/L dan menurun disetiap pengamatan karena kemampuan biodegradasi setiap bakteri. Kemampuan isolat tertinggi dalam mendegradasi minyak dimiliki oleh isolat bakteri *Pseudomonas*, yang mampu mendegradasi minyak hingga kadar minyak solar tersisa 1,65 mg/L. Selanjutnya isolat bakteri *Bacillus* mampu mendegradasi minyak solar hingga tersisa 2,19 mg/L dalam media pertumbuhannya.



Gambar 4.9 Grafik Persentase Biodegradasi Minyak Solar

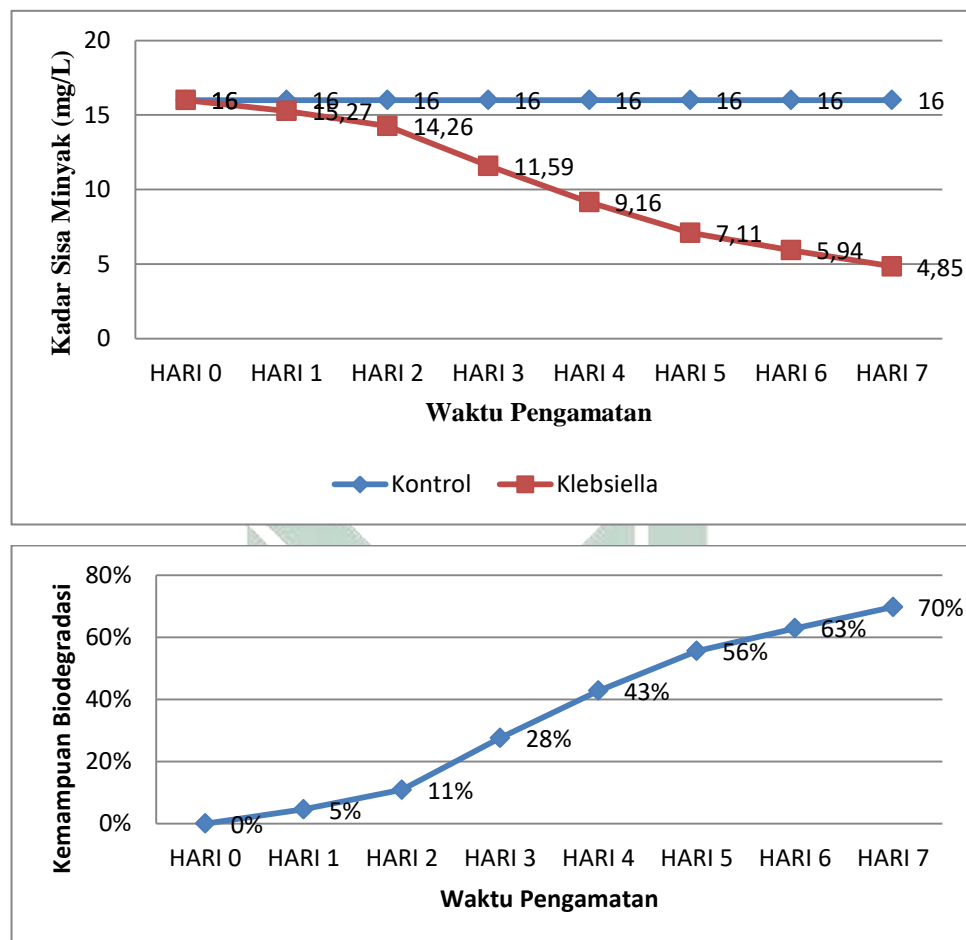
Kadar sisa minyak solar yang dihasilkan pada proses uji biodegradasi mengindikasikan tingkat kemampuan isolat bakteri dalam mendegradasi minyak solar. Kemampuan isolat bakteri tertinggi dimiliki oleh *Pseudomonas* yang memiliki kemampuan mendegradasi minyak solar hingga mencapai 90%. Sesuai hasil pada penelitian yang telah dilakukan Novianty *et al.* (2020) dengan mengisolasi bakteri indigen dari tanah yang terkontaminasi minyak bumi, didapatkan 3 dari 6 isolat bakteri diduga merupakan isolat bakteri genus *Pseudomonas* dan memiliki kemampuan paling efektif dalam mendegradasi hidrokarbon hingga persentase TPH mencapai 52,20 %.

Adapun kemampuan tiap isolat bakteri dalam mendegradasi minyak solar disajikan dibawah ini.

1. Biodegradasi Minyak Solar oleh Bakteri *Klebsiella*

Uji biodegradasi minyak solar dilakukan dengan menambahkan isolat bakteri *Klebsiella* pada media BHMS cair dan 2% minyak solar.

Media + isolat selanjutnya dilakukan pengocokan pada *shaker* agar inkubasi tetap berjalan secara aerob. Kemampuan isolat bakteri *Klebsiella* dalam mendegradasi minyak solar disajikan pada Gambar 4.10. Hari pertama menunjukkan penurunan pada jumlah minyak solar yang mula-mula sebesar 16 mg/L menjadi 15,27 mg/L. Pada pengamatan hari ke-2, kadar minyak solar mengalami penurunan menjadi 14,26 mg/L.



Gambar 4.10 Grafik Kadar Sisa Minyak Solar (atas) dan Persentase Kemampuan (bawah) Bakteri *Klebsiella* dalam Proses Biodegradasi

Jumlah minyak mengalami penurunan yang cukup signifikan menjadi 11,59 pada pengamatan hari ke-3. Pengamatan sisa kadar minyak dilanjutkan pada hari ke-4 dan ke-5, dan jumlah kadar minyak berturut-turut mengalami penurunan yaitu masing-masing sebesar 9,16 mg/L dan 7,11 mg/L. Setelah hari ke-6 pengamatan, jumlah minyak solar tetap

mengalami penurunan menjadi 5,94 mg/L, hingga pada hari terakhir, yaitu hari ke-7 berat akhir kadar minyak solar yang tersisa dari hasil biodegradasi oleh isolat yang diduga sebagai genus *Klebsiella* menjadi 4,85 mg/L.

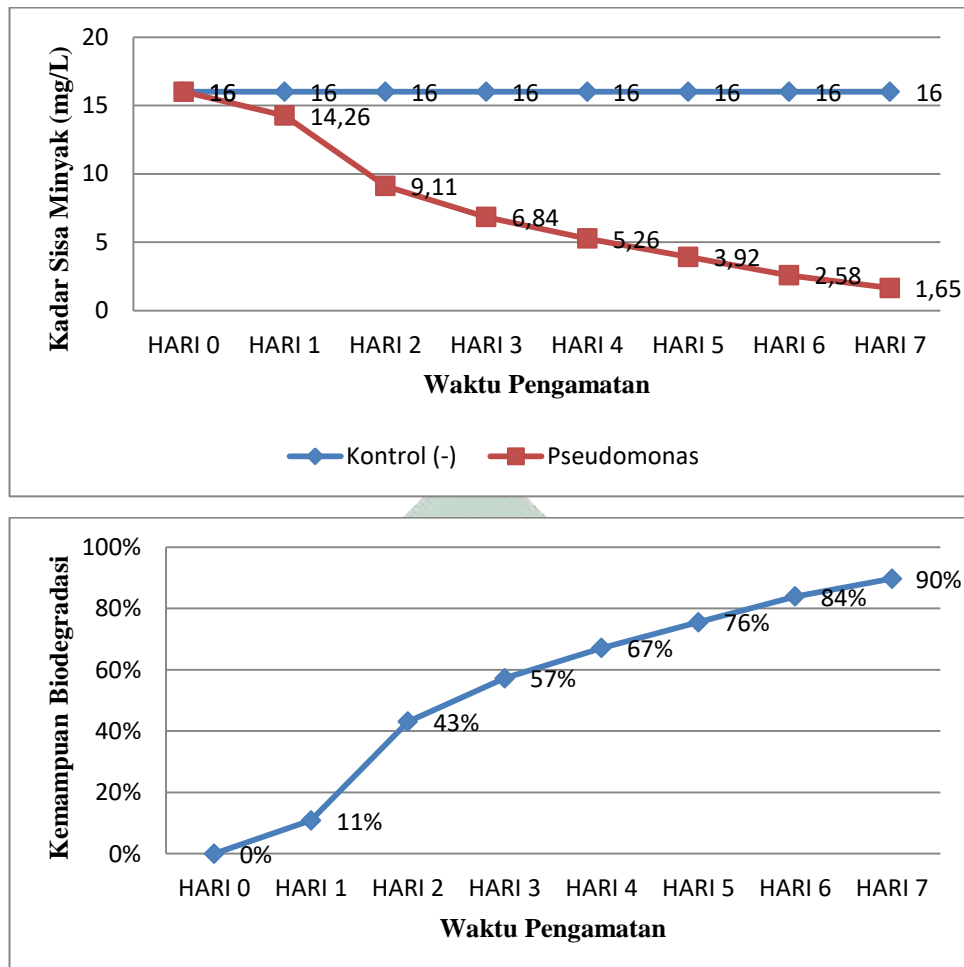
Penurunan kadar sisa minyak solar yang terjadi pada pengamatan tiap harinya menyebabkan nilai persentase kemampuan biodegradasi isolat *Klebsiella* mengalami peningkatan. Persentase biodegradasi minyak solar oleh bakteri *Klebsiella* pada pengamatan ini yang dilakukan selama 7 hari mampu mencapai nilai 70% di akhir hari pengamatan.

Kemampuan bakteri *Klebsiella* dalam mendegradasi minyak juga dibuktikan oleh Gultom *et al.* (2019) dimana pada penelitiannya, isolat bakteri *Klebsiella* cukup baik dalam menghasilkan surfaktan yang dapat mengemulsifikasi minyak dalam air hingga menunjukkan indeks emulsifikasi mencapai 46%. Selain itu, Ibrohim (2021) dengan penelitian yang sama mendapatkan persentase kemampuan bakteri *Klebsiella* dalam mendegradasi minyak solar selama 7x24 jam sebesar 74,14%.

2. Biodegradasi Minyak Solar oleh Bakteri *Pseudomonas*

Media BHMS cair + minyak solar yang telah dilakukan penambahan isolat dari bakteri *Pseudomonas* selanjutnya *dishaker* selama 7 hari dan dilakukan pengamatan setiap harinya. Kadar sisa minyak dan kemampuan dalam biodegradasi disajikan pada Gambar 4.11.

Hari pertama menunjukkan penurunan yang cukup signifikan terhadap kadar minyak solar yang terkandung, yaitu mula-mula sebesar 16 mg/L menjadi 14,26 mg/L. Lanjut pada pengamatan hari selanjutnya, sisa minyak solar mengalami pengurangan yang cukup signifikan hingga minyak tersisa sebesar 9,11 mg/L. Pengamatan di hari ke-3, hasil kadar minyak solar juga mengalami penurunan menjadi 6,84 mg/L.



Gambar 4.11 Grafik Kadar Sisa Minyak Solar (atas) dan Persentase Kemampuan (bawah) Bakteri Pseudomonas dalam Proses Biodegradasi

Kadar minyak solar pada hari ke-4 mengalami penurunan sehingga tersisa 5,26 mg/L. Pada hari ke-5 pengamatan, massa kadar minyak sisa turun menjadi 3,92 mg/L. Setelah hari ke-6 pengamatan, kadar sisa minyak solar tetap mengalami penurunan menjadi 2,58 mg/L dan berlanjut hingga hari terakhir pengamatan biodegradasi minyak solar oleh isolat yang diduga sebagai genus Pseudomonas yaitu minyak solar dalam wadah hanya tersisa menjadi 1,65 mg/L.

Pada penelitian ini bakteri Pseudomonas dapat mendegradasi minyak solar yang setiap harinya mengalami peningkatan, hingga pada hari terakhir pengamatan kemampuan yang dimiliki isolat bakteri Pseudomonas dalam biodegradasi minyak solar mencapai 90%. Pengujian

kemampuan bakteri *Pseudomonas* dalam mendegradasi minyak juga telah dilakukan oleh Gofar (2012), dan hasilnya menunjukkan kemampuan isolat genus *Pseudomonas* dapat menurunkan TPH hingga sebesar 63% atau hingga 7x lebih tinggi daripada kontrol. Terbuktinya kemampuan yang dimiliki bakteri *Pseudomonas* dalam mendegradasi minyak bumi dimanfaatkan oleh Perwira *et al.*(2021) dalam penelitiannya untuk mengetahui efektivitas bioaugmentasi menggunakan bakteri *Pseudomonas* jenis *Pseudomonas aeruginosa* dalam menurunkan nilai TPH, dan hasilnya menunjukkan bahwasannya 0,126 ml/gr bakteri *Pseudomonas* yang ditambahkan efektif untuk menurunkan nilai TPH tanah tercemar mencapai 45,72%.

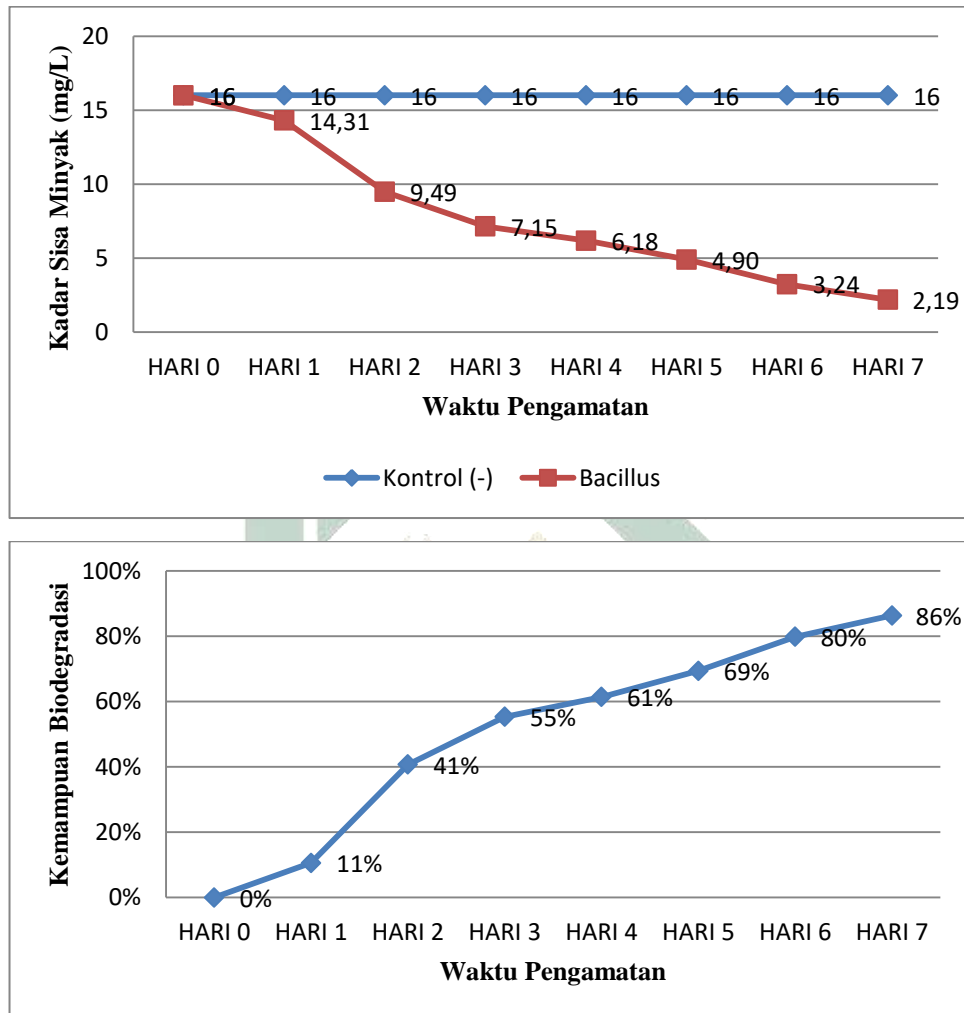
3. Biodegradasi Minyak Solar oleh Bakteri Bacillus

Pengujian kadar sisa minyak solar dilakukan dengan menambahkan isolat bakteri *Bacillus* pada media BHMS cair yang mengandung 2% minyak solar. Media+isolat selanjutnya dilakukan pengocokan pada *shaker* agar pertumbuhan dan proses biodegradasi berjalan secara aerob. Hasil penelitian yaitu kadar sisa minyak solar dan besar kemampuan isolat bakteri *Bacillus* dalam mendegradasi minyak solar disajikan pada Gambar 4.12

Hari pertama pengamatan biodegradasi minyak solar oleh isolat bakteri *Bacillus* menunjukkan penurunan jumlah minyak solar yang mula-mula sebesar 16 mg/L menjadi 14,31 mg/L. dilanjut pada pengamatan hari selanjutnya yaitu ke-2, sisa minyak solar mengalami pengurangan yang cukup signifikan hingga minyak tersisa sebesar 9,49 mg/L

Pengamatan hari ke-3 minyak solar yang terkandung berkurang menjadi 7,15. Mg/L. Pada hari ke-4 dan ke-5, jumlah kadar minyak berturut-turut berkurang yaitu masing-masing menjadi 6,18 dan 4,90 mg/L. Setelah hari ke-6 pengamatan, kadar sisa minyak solar tetap mengalami penurunan dari hari sebelumnya menjadi 3,24 mg/L. Pengamatan hari terakhir, yaitu hari ke-7 kadar minyak solar yang tersisa

dari hasil biodegradasi oleh isolat yang diduga sebagai genus *Bacillus* memiliki massa sebesar 2,19 mg/L.



Gambar 4.12 Grafik Kadar Sisa Minyak Solar (atas) dan Persentase Kemampuan (bawah) Bakteri *Bacillus* dalam Proses Biodegradasi

Menurunnya kadar minyak yang tersisa setelah pengujian menunjukkan kemampuan bakteri *Bacillus* dalam mendegradasi minyak solar. Kemampuan bakteri *Bacillus* dalam biodegradasi minyak solar pada penelitian ini terbukti mencapai 86%. Wang *et al.* (2019) dalam penelitiannya juga membuktikan kemampuan isolat bakteri *Bacillus* dari genus *Bacillus subtilis* yang berhasil diisolasi dari tanah yang tercemar minyak mentah mampu mendegradasi minyak mentah hingga 65% dalam kurun waktu 5 hari dengan kondisi lingkungan yang optimal. Adapun

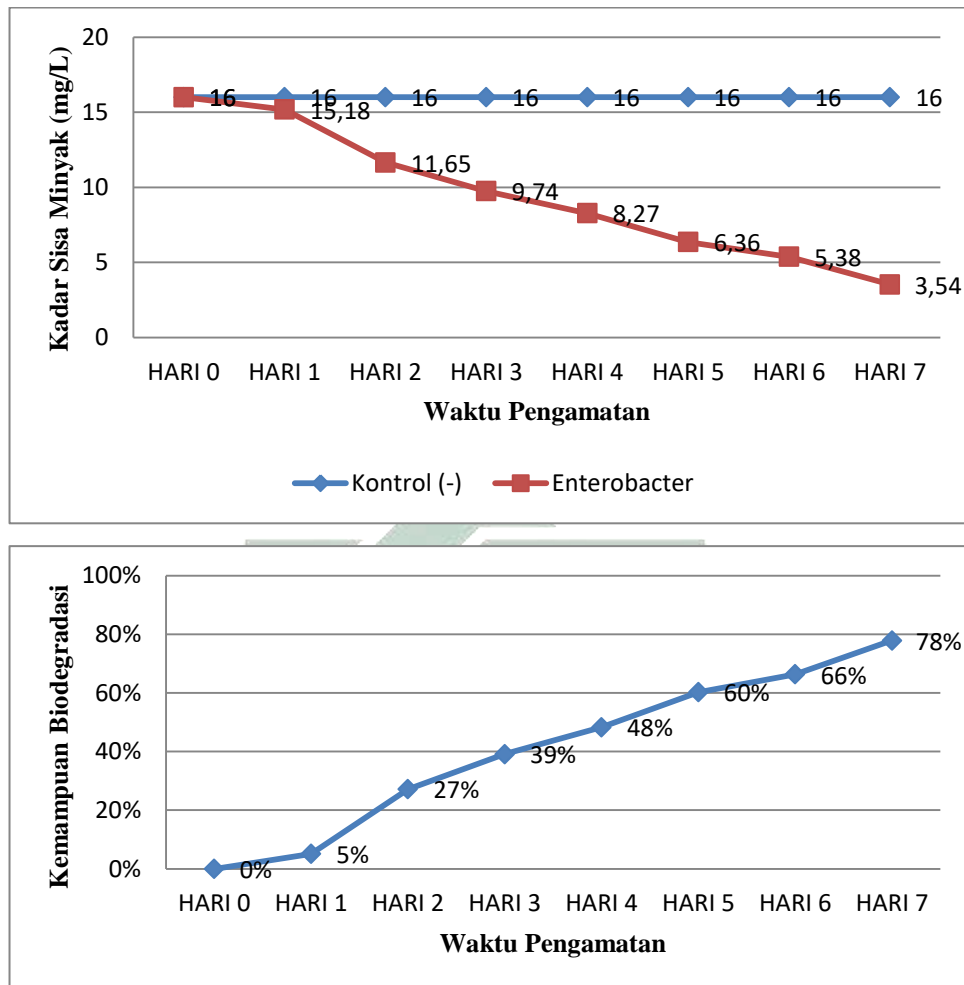
kemampuan bacillus dalam bentuk strain konsorsiumnya memiliki kemampuan yang lebih besar dibuktikan oleh penelitian Masika *et al.* (2020), dengan hasil konsorsium *Bacillus subtilis* dan *Bacillus amyloliquefaciens* memiliki persentase tertinggi dalam mendegradasi hidrokarbon pada limbah industri mencapai 64,5% dalam waktu 48 jam. Hal tersebut menjadikan bahwasannya bakteri bacillus berpotensi sebagai agen bioremediasi untuk pemulihan lingkungan yang terkontaminasi hidrokarbon.

4. Biodegradasi Minyak Solar oleh Bakteri Enterobacter

Media BHMS cair + minyak solar yang telah dilakukan penambahan isolat dari bakteri Enterobacter selanjutnya *dishaker* dan dilakukan pengamatan setiap harinya selama 7 hari. Sisa kadar minyak dan persen kemampuan isolat bakteri Enterobacter dalam mendegradasi minyak solar disajikan dengan grafik pada Gambar 4.13.

Hari pertama menunjukkan penurunan yang cukup signifikan terhadap kadar minyak solar yang terkandung, yaitu mula-mula sebesar 16 mg/L menjadi 15,18 mg/L. Dilanjutkan pada pengamatan hari ke-2 dan ke-3, kadar minyak solar yang terkandung berkurang cukup signifikan secara berturut-turut menjadi 11,65 dan 9,74 mg/L.

Sisa kadar minyak pada hari ke -4 mengalami penurunan dari hari sebelumnya yaitu menjadi 8,27 mg/L. Pada hari ke-5 pengamatan, kadar minyak solar berkurang menjadi 6,36 mg/L. Setelah hari ke- 6 pengamatan, kadar minyak solar yang tersisa tetap mengalami penurunan menjadi 5,38 mg/L dan berlanjut hingga hari terakhir pengamatan biodegradasi minyak solar oleh isolat yang diduga sebagai genus Enterobacter yaitu menjadi 3,54 mg/L.

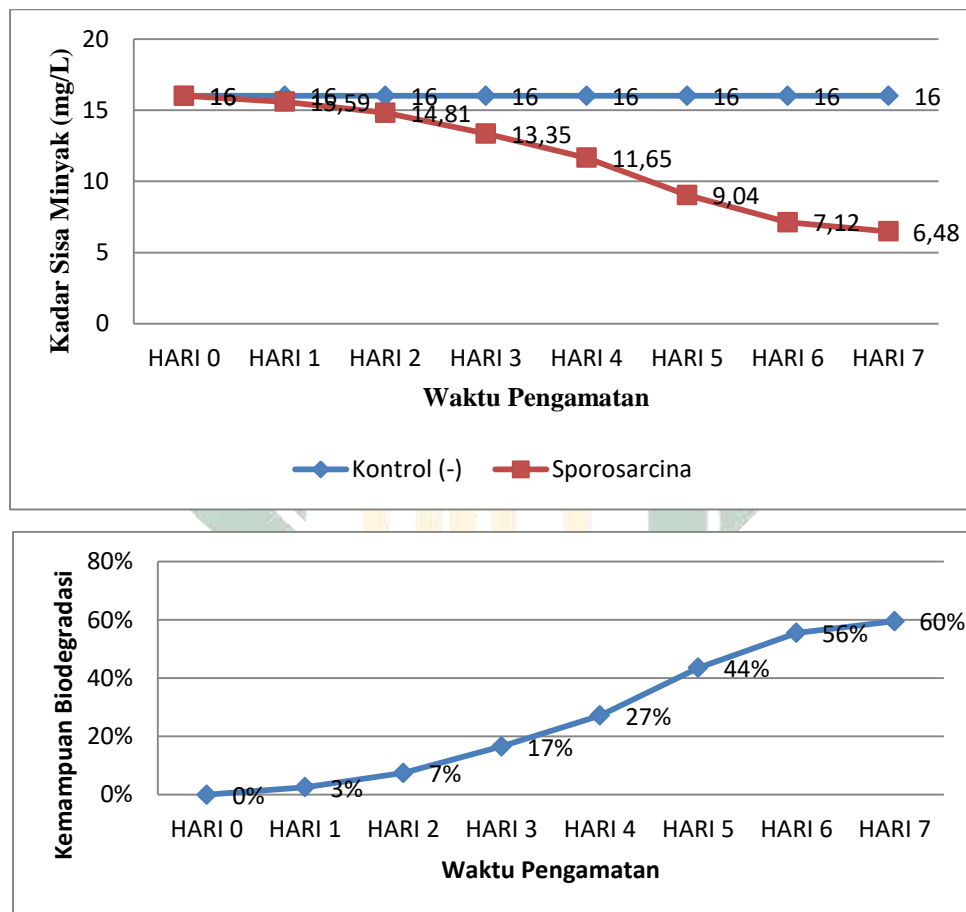


Gambar 4.13 Grafik Kadar Sisa Minyak Solar (atas) dan Persentase Kemampuan (bawah) Bakteri Enterobacter dalam Proses Biodegradasi

Degradasi minyak solar oleh bakteri Enterobacter setiap harinya mengalami peningkatan hingga tingkat maximal mencapai 78% setelah hari ke-7. Adapun pengujian kemampuan degradasi hidrokarbon oleh bakteri Enterobacter telah dilakukan, antara lain oleh Jemil *et al.* (2018) mendapatkan kemampuan Enterobacter dalam mendegradasi minyak solar mencapai 48% dalam waktu 15 hari masa inkubasi. Selain itu Allamin, *et al.* (2021) membuktikan kemampuan bakteri Enterobacter dalam mendegradasi hidrokarbon berupa minyak diesel dapat mencapai 78% setelah 21 hari.

5. Biodegradasi Minyak Solar oleh Bakteri *Sporosarcina*

Pengujian kadar sisa minyak solar dilakukan dengan menambahkan isolat bakteri *Sporosarcina* pada media BHMS cair yang mengandung 2% minyak solar. Media selanjutnya dilakukan pengocokan pada *shaker* agar biodegradasi tetap berjalan secara aerob.



Gambar 4. 14 Grafik Kadar Sisa Minyak Solar (atas) dan Persentase Kemampuan (bawah) Bakteri *Sporosarcina* dalam Proses Biodegradasi

Berdasarkan hasil penelitian kemampuan degradasi minyak solar oleh isolat bakteri *Sporosarcina* (Gambar 4.14), hari pertama pengamatan menunjukkan penurunan jumlah minyak solar yang mula-mula sebesar 16 mg/L menjadi 15,59 mg/L. Pada pengamatan hari ke-2, kadar minyak solar juga mengalami penurunan menjadi 14,81 mg/L.

Pengamatan sisa kadar minyak dilanjutkan pada hari ke-3 dan ke-4, jumlah kadar minyak solar yang terkandung berturut-turut mengalami

penurunan yaitu masing-masing sebesar 13,35 dan 11,65 mg/L. Pada hari ke-5 pengamatan, kadar minyak sisa berkurang menjadi sebesar 9,04 mg/L. Setelah hari ke- 6 pengamatan, kadar sisa minyak solar tetap mengalami penurunan hingga massa minyak solar menjadi 7,12 mg/L, hingga setelah 7 hari pengujian biodegradasi oleh isolat yang diduga sebagai genus *Sporosarcina*, minyak solar yang terkandung tetap berkurang dan tersisa sebesar 6,48 mg/L.

Menurunnya kadar minyak yang tersisa setelah pengujian menunjukkan kemampuan bakteri *Sporosarcina* dalam mendegradasi minyak solar. Kemampuan bakteri *Sporosarcina* dalam biodegradasi minyak solar pada pengujian selama 7 hari mampu mencapai 60%.

Keberadaan bakteri *Sporosarcina* juga berhasil didapatkan oleh Hardestyariki *et al.* (2013) hasil isolasi dari rhizosfer tanaman yang tercemar minyak bumi. Dalam bentuk konsorsium, *Sporosarcina* dan ke-3 bakteri jenis lainnya diuji kemampuannya dalam biodegradasi minyak bumi. Selama 8 hari pengamatan konsorsium mampu berkembang sebesar 7,81 sel/jam dan menurunkan konsentrasi TPH (Total Petroleum Hidrokarbon) sebesar 57,33%. (Hardestyariki *et al.*, 2020)

4.5 Bakteri Hidrokarboklastik dalam Persepektif Al-Qur'an dan Hadits

Keberadaan bakteri memang tidak disebutkan secara langsung dalam Al-Qur'an. Akan tetapi Allah SWT telah banyak menyinggunginya di beberapa ayat. Contohnya pada ayat berikut:

سُبْحٰنَ الَّذِيْ خَلَقَ الْاَرْوَاجَ كُلَّهَا مِمَّا تُنْبِتُ الْاَرْضُ وَمِنْ اَنْفُسِهِمْ وَمِمَّا لَا يَعْلَمُوْنَ

Artinya: “Mahasuci (Allah) yang telah menciptakan semuanya berpasang-pasangan, baik dari apa yang ditumbuhkan oleh bumi dan dari diri mereka sendiri, maupun dari apa yang tidak mereka ketahui” (QS. Yasin: 36)

وَ الْخَيْلَ وَ الْبِغَالَ وَ الْحَمِيْرَ لِتَرْكَبُوْهَا وَ زِيْنَةً ۗ وَ يَخْلُقُ مَا لَا تَعْلَمُوْنَ

Artinya: *“dan (Dia telah menciptakan) kuda, bagal, keledai, untuk kamu tunggangi dan (menjadi) perhiasan. Allah menciptakan apa yang tidak kamu ketahui”* (QS An-Nahl: 8)

Kalimat “dari apa yang tidak mereka ketahui” dan “Allah menciptakan apa yang tidak kamu ketahui” menunjukkan bahwasannya saat wahyu Allah turun, terdapat suatu kehidupan yang manusia sendiri belum ketahui. Kalimat tersebut disandingkan dengan ciptaan Allah SWT seperti hewan kuda, keledai yang keberadaannya diketahui dan dimanfaatkan oleh manusia. Seiring berjalannya waktu, perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi, saat ini manusia telah mengetahui keberadaan dari makhluk hidup ciptaan Allah SWT yang telah disebutkan sebelumnya,

Kedua ayat tersebut memberikan penjelasan mengenai adanya ciptaan Allah dengan ukuran yang sangat kecil, salah satunya yaitu bakteri, dimana keberadaannya kita tidak dapat melihat secara langsung. Maka dari itu perkembangan ilmu dilakukan untuk mengamati, menemukan, mengidentifikasi, hingga mengetahui manfaat bakteri sebagai makhluk hidup ciptaan Allah SWT.

Kehadiran bakteri di bumi ini saat ini telah banyak dimanfaatkan oleh manusia untuk mendukung kehidupan. Bioremediasi menjadi salah satu aktivitas untuk meningkatkan kualitas lingkungan yaitu menghilangkan materi penyebab polusi/pencemaran dengan memanfaatkan kemampuan dari bakteri. Bakteri akan menghasilkan suatu enzim yang dapat memodifikasi hingga memecah materi berbahaya pada polutan menjadi materi yang tidak berbahaya. Proses bioremediasi banyak digunakan untuk menangani polutan berbahaya seperti buangan hidrokarbon minyak bumi. Bioremediasi buangan hidrokarbon minyak bumi dilakukan oleh bakteri yang terkenal dengan ‘bakteri pemakan minyak’ atau dikenal dengan bakteri hidrokarbonoklastik.

Keberadaan bakteri hidrokarbonoklastik yang ditemukan pada rizhosfer tumbuhan lamun dalam penelitian ini, membuktikan salah satu kebenaran bahwasannya Allah SWT telah menciptakan dan memiliki kekuasaan atas segala

sesuatu, bahkan dalam penciptaan hal-hal yang sangat kecil dan tak tampak secara langsung oleh mata manusia. Pada Al-Qur'an surat Al-Baqarah ayat 26 yang telah dikutip sebelumnya:

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا ۗ فَأَمَّا الَّذِينَ آمَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ ۗ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا ۗ يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا ۗ وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا ۗ وَمَا يُضِلُّ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ

Artinya: “Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu. Adapun orang-orang yang beriman, maka mereka yakin bahwa perumpamaan itu benar dari Tuhan mereka, tetapi mereka yang kafir mengatakan: "Apakah maksud Allah menjadikan ini untuk perumpamaan?". Dengan perumpamaan itu banyak orang yang disesatkan Allah, dan dengan perumpamaan itu (pula) banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. Dan tidak ada yang disesatkan Allah kecuali orang-orang yang fasik”

Terdapat satu kalimat pada ayat tersebut, yaitu *فَمَا فَوْقَهَا* yang memiliki arti “berupa nyamuk atau lebih rendah dari itu”. Syaikh Dr. Muhammad Sulaiman Al Asyqar menafsirkan pada Zubdatut Tafsir Min Fathil Qadir, kalimat tersebut memiliki arti “yakni yang lebih kecil dari itu, semisal sayap nyamuk. Dan sungguh berapa banyak makhluk hidup yang tak terlihat oleh mata telanjang dan hanya terlihat dengan alat pembesar. Maha suci Allah lagi maha pencipta dan mengetahui”. Sesuai dengan penafsiran tersebut bahwasannya Allah memiliki kuasa dan tidak malu dalam menciptakan dan memberi perumpamaan makhluk yang hanya dapat dilihat melalui bantuan alat pembesar.

Telah banyak ayat dalam Al-qur'an dan perulangannya yang menyatakan bahwasannya Allah maha menciptakan sesuatu, bahkan dalam ukuran yang sangat kecil seperti bakteri hidrokarbonoklastik. Dalam QS. Az-Zumar (39); 62-63 Allah berfirman:

اللَّهُ خَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ ۖ وَهُوَ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ وَكِيلٌ ۝

لَهُ مَقَالِيدُ السَّمٰوٰتِ وَالْاَرْضِ ۗ وَالَّذِيْنَ كَفَرُوْا بِآٰيٰتِ اللّٰهِ اُوْلٰٓئِكَ هُمُ الْخٰسِرُوْنَ

Artinya: “Allah adalah pencipta segala sesuatu dan Dia Maha Pemelihara atas segala sesuatu (62). Milik-Nyalah kunci-kunci (perbendaharaan) langit dan bumi. Orang-orang yang kufur terhadap ayat-ayat Allah, mereka itulah orang-orang yang rugi (63)”

Berdasarkan Tafsir Jalal Ad-Din Al-Mahalli dan Jalal Ad-Din As-Syuti atau terkenal dengan Jalalain “(Allah menciptakan segala sesuatu dan Dia memelihara segala sesuatu) Dia mengatur dan menguasainya menurut apa yang dikehendaki-Nya. (Milik-Nyalah kunci-kunci (perbendaharaan) langit dan bumi) yakni berupa air hujan tumbuh-tumbuhan dan lain sebagainya. (Orang-orang yang kufur terhadap ayat-ayat Allah) yaitu Al-Qur’an (mereka itulah orang-orang yang rugi) ayat ini berhubungan langsung dengan firman-Nya pada QS. Az-Zumar; 61”

Kemampuan yang dimiliki oleh bakteri hidrokarbonoklastik yang ditemukan di wilayah perairan, yaitu sebagai biodegradasi cemaran polutan minyak solar yang terjadi di lingkungan laut dan telah dibuktikan pada penelitian ini. Lima kelompok bakteri Hidrokarbonoklastik yang diisolasi dari rhizosfer tumbuhan lamun memiliki kemampuan dalam mendegradasikan minyak solar berhubungan dengan Sabda Rosulullah SAW dari hadits shahih riwayat Imam Bukhari:

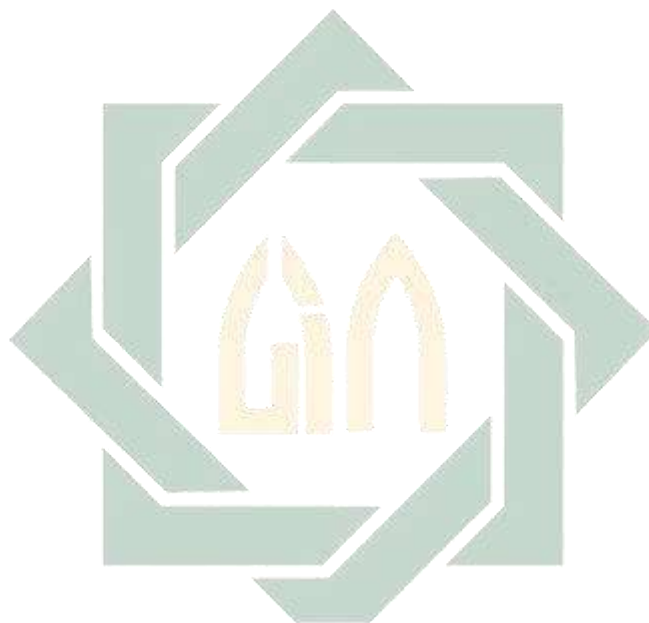
UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

مَا اَنْزَلَ اللّٰهُ دَاۤءًا اِلَّا اَنْزَلَ لَهٗ شِفَاۤءًا

Artinya “Allah tidak meurunkan suatu penyakit, kecuali Dia juga menurunkan penyembuhnya” (Riwayat al-Bukhari dan Muslim dari Abu Hurairah).

Secara umum hadits tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT menciptakan penyakit, maka Allah pun menciptakan obat sebagai penawarnya. Dalam kasus pencemaran lingkungan, Allah juga menciptakan obat/penawar di suatu lingkungan yang mengalami kerusakan. Sangat jelas bagi Allah menciptakan makhluk yang mampu menimbulkan penyakit/kerusakan, dan Allah juga menciptakan makhluk sebagai penawar atau yang dapat memperbaiki. Penelitian

ini sejalan dengan penjelasan hadits di atas, yaitu diperoleh lima isolat bakteri hidrokarbonoklastik asal rhizosfer lamun yang terancam mengalami pencemaran oleh polutan minyak solar. Kelima isolat bakteri tersebut berhasil diuji dan memiliki kemampuan dalam mendegradasikan minyak solar. Sehingga dengan penelitian lebih lanjut, isolat bakteri yang ditemukan dari kelompok Klebsiella, Pseudomonas, Bacillus, Enterobacter, dan Sporosarcina memiliki kemampuan sebagai agen bioremediasi di suatu lingkungan yang tercemar minyak



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan yang telah dijabarkan, maka kesimpulan dari penelitian ini yaitu:

1. Terdapat lima isolat bakteri hidrokarbonoklastik yang ditemukan di rhizosfer lamun Desa Tunggul, Kecamatan Paciran, Lamongan. Kelima isolat tersebut diduga merupakan kelompok bakteri dari genus *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter*, dan *Sporosarcina*.
2. Berdasarkan hasil uji degradasi minyak solar, semua isolat memiliki kemampuan yang cukup baik dalam mendegradasi hidrokarbon minyak solar serta mampu tumbuh dan berkembang biak pada media pertumbuhan BHMS dan minyak solar. Isolat dengan kemampuan paling efektif yaitu dari bakteri *Pseudomonas* yang mampu mendegradasi minyak solar hingga 90% dengan jumlah minyak awal sebanyak 16 gram menjadi 1,65 gram. Kemampuan terefektif selanjutnya dimiliki oleh *Bacillus* dengan kemampuan biodegradasi sebesar 86%. Disusul oleh kemampuan dari isolat bakteri *Enterobacter*, *Klebsiella*, dan *Sporosarcina* yang masing-masing isolat secara berurutan dapat mendegradasi minyak solar sebesar 78%, 70%, dan 60%.

5.2 Saran

Berdasarkan pengkajian dari penelitian yang telah dilakukan, peneliti menyadari masih banyaknya kekurangan dalam penelitian ini. Sehingga adapun beberapa saran untuk penelitian kedepannya dapat melakukan:

1. Pengidentifikasian bakteri dapat dilakukan hingga mengetahui spesies dari bakteri dengan menggunakan metode uji DNA/RNA.
2. Media pertumbuhan untuk selalu di perbaharui agar mengetahui lama waktu hidup bakteri untuk terus tumbuh dan membelah hingga mencapai jumlah tertentu sebelum mencapai fase kematian.

3. Melakukan pengujian dengan suhu, pH dan kondisi yang lebih sesuai dengan kebutuhan dari setiap isolat bakteri.
4. Pengujian dilanjutkan hingga pada kemampuan konsorsium bakteri.
5. Melakukan penelitian pada surfaktan yang dihasilkan oleh bakteri hidrokarbonoklastik.
6. Mengetahui kemampuan isolat bakteri dalam biodegradasi dalam skala laboratorium dan lapang.



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A

DAFTAR PUSTAKA

- Afianti, N., Febrian, D., & Falahudin, D. (2019). Isolasi Bakteri Pendegradasi Minyak Mentah dan Polisiklik Aromatik Hidrokarbondari dari Sedimen Mangrove Bintan. *Oseanologi dan Limnologi di Indonesia*, 4(3), 155-165.
- Agnesia, M., & Abda, Y. (2020). Pengaruh Bioaugmentasi Bakteri Hidrokarbonoklastik (*Bacillus* sp. & *Alcaligenes* sp.) terhadap pH Tanah. *Serambi Biologi*, 5(2), 73-78.
- Ali, M. (2012). *Tinjauan Proses Bioremediasi Melalui Pengujian Tanah Tercemar Minyak*. Surabaya: upn press.
- Allamin, I., Dungus, F., Ismail, H., Ismail, G., Bukar, U., Shettima, H., et al. (2021). Biodegradation of hydrocarbon by *Enterobacter* sp IAA01 isolated from hydrocarbon exploration site soil of Kukawa Northeastern Nigeria. *African Journal of Environmental Science and Technology*, 15(9).
- Andreas, P. (2019). Biodegradasi Minyak Solar Menggunakan Isolat Bakteri Indigenous Mangrove Tritih Kulon, Cilacap. *Jurnal Kridatama Sains dan Teknologi*, 1(1).
- ATCC. (2022). *Introduction to Microbiology*. Virginia.
- Atlas, R. (1991). Microbial Hydrocarbon Degradation-Bioremediation of Oil Spill. *J. Chem. Tech. Biotechnol*, 149-156.
- Boone, D., Garrity, G., Castenholz, R., Brenner, D., Krieg, N., & Staley, J. (2005). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (2nd ed., Vol. 2). United States of America: Springer.
- Brodersen, K., Siboni, N., Nielsen, D., Pernice, M., Ralph, P., Seymour, J., et al. (2018). Seagrass Rhizosphere Microenvironment Alters Plant-associated Microbial Community Composition. *Environmental Microbiology*, 20(8), 2854-2864.
- Damayanti, S., Komala, O., & Effendi, E. (2018). Identifikasi Bakteri dari Pupuk Organik Cair Isi Rumen Sapi. *Ekologia : Jurnal Ilmiah Ilmu Dasar dan Lingkungan Hidup*, 18(2), 63-71.
- Das, P., Mukherjee, S., & Sen, R. (2008). Antimicrobial Potential of A Lipopeptide Biosurfactant Derived from A Marine *Bacillus circulans*. *Journal of Applied Microbiology*, 1675-1684.
- Dashti, N., Ali, N., Eliyas, M., Khanafer, M., Sorkhoh, N., & Radwan, S. (2015). Most Hydrocarbonoclastic Bacteria in the Total Environment are Diazotrophic, which Highlights Their Value in the Bioremediation of Hydrocarbon Contaminants. *Microbes Environ*, 30(1), 70-75.
- Falah, F., Suryono, C., & Riniatsih, I. (2020). Logam Berat (Pb) pada Lamun *Enhalus acoroides* (Linnaeus F.) Royle 1839 (Magnoliopsida:

- Hydrocharitaceae) di Pulau Panjang dan Pulau Lima Teluk Banten. *Journal of Marine Research*, 9(2), 193-200.
- Ghosh, U., Subhashini, P., Dilipan, E., Raja, S., Thangaradjou, T., & Kannan, L. (2012). Isolation and Characterization of Phosphate-Solubilizing Bacteria from Seagrass Rhizosphere Soil. *J. Ocean Univ. China (Oceanic and Coastal Sea Research)*, 11(1), 86-92.
- Gofar, N. (2012). Aplikasi Isolat Bakteri Hidrokarbonoklastik asal Rizosfer Mangrove pada Tanah Tercemar Minyak Bumi. *Jurnal Lahan Suboptimal*, 1(2), 123-129.
- Gultom, S., Hasbi, M., & Purwanto, E. (2019). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penghasil Biosurfaktan pada Kolam Tanah Gathering Station-EOR Plant di PT. Bumi Siak Pusako-Pertamina Hulu, Provinsi Riau. *Academia*.
- Hardestyariki, D., Yudoyono, B., & Munawar. (2013). Eksplorasi Bakteri Hidrokarbonoklastik dari Rhizosfer di Lahan Tambang Minyak Rakyat, Kecamatan Babat Toman, Sumatera Selatan. *Jurnal Penelitian Sains*, 16(3).
- Hardestyariki, D., Yudoyono, B., & Munawar. (2020). Uji Kemampuan Konsorsium Bakteri Hidrokarbonoklastik Sebagai Agen Bioremediasi. *Sriwijaya Bioscientia*, 1(1).
- Haripriyatna, R. (2016). *Isolasi dan Seleksi Bakteri Indigen Pendegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi*. Skripsi, Universitas Sriwijaya.
- Hasyimuddin, Djide, M., & Samawi, M. (2016). Isolasi Bakteri Pendegradasi Minyak Solar Dari Perairan Teluk Pare-Pare. *BIOGENESIS*, 4(1).
- Herdiantoro, D. (2005). *Biodegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi oleh Bacillus sp. Galur ICBB 7859 dan ICBB 7865 dari Ekosistem Air Hitam Kalimantan Tengah dengan Penambahan Surfaktan*. Thesis, Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Huyyirnah, & R, R. (2021). Modifikasi Medium Menggunakan Saline-Water Soluble Fraction (SSF) atau Fraksi Minyak Terlarut untuk Menumbuhkan Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon. *Indonesian Journal of Laboratory*, 4(2), 72-81.
- Ibrahim, H. (2016). Characterization of biosurfactants produced by novel strains of Ochrobactrum anthropi HM-1 and Citrobacter freundii HM-2 from used engine oil-contaminated soil. *Egyptian Journal of Petroleum*.
- Ibrohim. (2021). *Uji Biodegradasi Minyak Solar Oleh Isolat Bakteri Hidrokarbonoklastik dari Pantai Sendangbiru Kabupaten Malang*. Skripsi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Jemil, N., Hmidet, N., Ayed, H., & Nasri, M. (2018). Physicochemical characterization of Enterobacter cloacae C3 lipopeptides and their applications in enhancing diesel oil biodegradation. *ELSEVIER*.

- Kamallia, S., Hasbi, M., & Budijono. (2021). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penghasil Biosurfaktan Asal Limbah Cair Tahu UD. Dika Putra, Provinsi Riau. *Jurnal Ilmu Perairan (Aquatic Science)*, 9(1).
- Khairani, Aini, F., & Riany, H. (2019). Karakteristik dan Identifikasi Bakteri Rizosfer Tanaman Sawit Jambi. *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*, 12(2), 198-206.
- Khoirunnisa, A. (2016). *PENGARUH INTERFERENSI ION KADMIUM (Cd²⁺) TERHADAP BIOSORPSI ION TIMBAL (Pb²⁺) OLEH SEL RAGI Saccharomyces cerevisiae PADA VARIASI WAKTU KONTAK DAN pH MEDIA*. Skripsi, Universitas Negeri Yogyakarta, Pendidikan Kimia.
- Khusnan, Salasia, S., & Soegiyono. (2008). Isolasi, Identifikasi dan Karakterisasi Fenotip Bakteri Staphylococcus aureus dari Limbah Penyembelihan dan Karkas Ayam Potong. *Jurnal Veteriner*, 9(1).
- Kristinanda, A. (2018). *Isolasi Bakteri Pendegradasi Senyawa Hidrokarbon pada Tanah Tercemar di PT. KAI (Persero) UPT Balai Yasa Yogyakarta*. Skripsi, Universitas Islam Indonesia.
- Kuswinanti, T., Baharuddin, & Sukmawati, S. (2014). Efektivitas Isolat Bakteri dari Rizosfer dan Bahan Organik Terhadap Ralstonia solanacearum dan Fusarium oxysporum pada Tanaman Kentang. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 10(2), 68-72.
- Leboffe, M., & Pierce, B. (2011). *A Photographic for The Microbiology Laboratory 4th Edition*. Englewood: Morton Publishing.
- Manalu, R., Napoleon, A., & Hermawan, A. (2016). Eksplorasi Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon Pada Tanah Terkontaminasi Minyak Bumi. *Sainstech Farma*, 9(2).
- Masika, W., Moonsamy, G., Mandree, P., Ramchuran, S., Lalloo, R., & Kudunga, T. (2020). Biodegradation of petroleum hydrocarbon waste using consortia of Bacillus sp. *Bioremediation Journal*.
- Misna, & Diana, K. (2016). AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT BAWANG MERAH (Allium cepa L.) TERHADAP BAKTERI Staphylococcus aureus. *GALENIKA Journal of Pharmacy*, 2(2).
- Mukamto, Ulfah, S., Mahalina, W., Syauqi, A., Istiqfaroh, L., & Trimulyono, G. (2015). Isolasi dan Karakterisasi Bacillus sp. Pelarut Fosfat dari Rhizosfer Tanaman Leguminosae. *Sains & Matematika*, 3(2).
- Munawar. (1999). *Isolasi dan Uji Kemampuan Isolat Bakteri Rizosfir dari Hutan Bakau di Cilacap dalam Mendegradasi Residu Minyak Bumi*. Tesis Magister, Institut Teknologi Bandung.
- Munir, E. (2006). *Pemanfaatan Mikroba dalam Bioremediasi: Suatu Teknologi Alternatif untuk Pelestarian Lingkungan*. USU e-Repository.

- Mwaura, A., Mbatia, B., Muge, E., & Okanya, P. (2018). Screening and Characterization of Hydrocarbonoclastic Bacteria Isolated from Oil-contaminated Soils from Auto Garages. *International Journal of Microbiology and Biotechnology*, 3(1), 11-24.
- Nababan, B. (2008). *Isolasi dan Uji Potensi Bakteri Pendegradasi Minyak Solar dari Laut Belawan*. Tesis, Universitas Sumatera Utara.
- Nasikhin, R., & Shovitri, M. (2013). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Solar dan Bensin dari Perairan Pelabuhan Gresik. *Jurnal Sains dan Seni POMITS*, 2(2).
- Ni'matuzahroh, Sumarsih, S., & Fatimah. (2012). *Interaksi Biosurfaktan dan Enzim Lipase Bakteri Hidrokarbonoklastik dalam Solubilisasi Oil Sludge*. Universitas Airlangga.
- Novianty, R., Saryono, Awaluddin, A., & Pratiwi, N. (2020). Bakteri Indigen Pendegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi di Kabupaten Siak Provinsi Riau. *Jurnal Teknik Kimia USU*, 09(1), 34-40.
- Nuansa, L. (2021). *Analisis Hubungan Kualitas Perairan dan Kerapatan Lamun *Enhalus acroides* Terhadap Struktur Komunitas Perifiton di Perairan Tunggul, Lamongan*. Skripsi, Universitas Islam Negeri Sunan Ampel.
- Nugroho, A. (2006). Biodegradasi Sludge Minyak Bumi dalam Skala Mikrokosmos: Simulasi Sederhana Sebagai Kajian Awal Bioremediasi Land Treatment. *Makara, Teknologi*, 10(2), 82-89.
- Nurdin, W. A. (2016). *ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI DOMINAN DALAM SAMPEL MINYAK MENTAH DARI KILANG MINYAK TRADISIONAL*. Tugas Akhir, Universitas Islam Indonesia, Teknik Lingkungan, Yogyakarta.
- Nurjanah, I., Mauludiyah, & Munir, M. (2020). Potensi Degradasi Minyak Solar oleh Bakteri Hidrokarbonoklastik di Perairan Pelabuhan Tanjung Perak. *Journal of MRCM*, 1(1).
- Perwira, K., Lukito, H., & Irawan, A. (2021). Efektivitas Bioaugmentasi dengan *Pseudomonas aeruginosa* pada Tanah Tercemar Minyak Bumi. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Lingkungan Kebumihan Ke-III*. Yogyakarta.
- Prakoso, B., Widianingsih, & Sunaryo. (2020). Bakteri Pendegradasi Solar Dari Sedimen Perairan Dalam Skala Laboratorium (In Vitro). *Journal of Marine Research*, 9(4), 453-463.
- Prayitno, J., & Sopiah, N. (2016). Degradasi Senyawa Fenol Oleh Bakteri Yang Diisolasi dari Area Pertambangan Minyak Bumi. *Jurnal Teknologi Lingkungan*, 17(2).
- Purbowati, R., Ni'matuzahroh, & Surtiningsih, T. (2011). Skrining Pertumbuhan Mikroba Hidrokarbonoklastik Hasil Isolasi dari Tanah Tercemar Minyak

- Wonocolo, Bojonegoro pada Senyawa Monoaromatik Hidrokarbon (Benzen, Toluen, dan Xilen). *Berk. Penel. Hayati Edisi Khusus*, 91-95.
- Puspitasari, I., Trianto, A., & Suprijanto, J. (2020). Eksplorasi Bakteri Pendegradasi Minyak dari Perairan Pelabuhan Tanjung Mas, Semarang. *Journal of Marine Research*, 9(3), 281-288.
- Putra, G., Ramona, Y., & Prraborini, M. (2020). Eksplorasi Dan Identifikasi Mikroba Yang Diisolasi dari Rhizosfer Tanaman Stroberi (*Fragaria x ananassa* Dutch.) Di Kawasan Pancasari Bedugul. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, 7(2), 62-70.
- Putri, M. H., Sukini, & Yodong. (2017). *Mikrobiologi*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Putri, M., Sukini, & Yodong. (2017). *MIkrobiologi*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia .
- Putri, R. (2021). *Efektivitas Kombinasi Tepung Ubi Jalar dan Kacang Kedelai Sebagai Media Alternatif Escherichia coli dan Staphylococcus aureus*. Skripsi, Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta, Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis.
- Rahmayanti, H. (2006). Pencemaran Laut oleh Minyak. *Menara, Jurnal Teknik Sipil*, 1(1), 63-74.
- Reningtyas, R., & Mahreni. (2015). Biosurfaktan. *Eksergi*, XII(2).
- Riniatsih, I., & Endrawati, H. (2013). Pertumbuhan Lamun Hasil Transplantasi Jenis *Cymodocea rotundata* di Padang Lamun Teluk Awur Jepara. *Buletin Oseanografi Marina*, 2, 34-40.
- Rompas, R. (2012). Isolasi dan Identifikasi Flavonoid dalam Daun Lamun (*Syringodium isoetifolium*). *Pharmacon*, 1(2).
- Sakey, W. F., Wagey, B., & Gerung, G. (2015). Variasi Morfometrik pada Beberapa Lamun di Perairan Semenanjung Minahasa. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 1(1).
- Saraswati, R., Husen, E., & Simanungkalit. (2007). *Metode Analisis Biologi Tanah*. Bogor: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Lahan Pertanian.
- Sayuti, I., & Suratni. (2015). *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Hidrokarbonoklastik dari Limbah Cair Minyak Bumi GS Cevron Pasifik Indonesia di Desa Benar Kecamatan Rimba Melintang Rokan Hilir*. Prosiding Semirata 2015 bidang MIPA BKS-PTN Barat, Universitas Tanjungpura Pontianak.
- Sayuti, I., Nusras, & Butar-Butar, I. (2017). Isolation and Identification of Bacteria Oil Waste of Waters Sungai Duku Port City of Pekanbaru as Learning Module Design Biology in Senior High School. *neliti*.

- Sayuti, I., Siregar, Y., Amin, B., & Agustien, A. (2016). Isolasi Bakteri Indigen Minyak Bumi dari Gas Boot di Petapahan Riau. *Prosiding Seminar Nasional "Pelestarian Lingkungan & Mitigasi Bencana"*. Pekanbaru.
- Setiani, N., Agustina, N., Mardiah, I., Hamdani, S., & Astriany, D. (2020). Potensi *Bacillus cereus* dalam produksi biosurfaktan. *Jurnal Biologi Udayana*, 24(2), 135-141.
- Setiawati, M., Suryatmana, P., Herdiyantoro, D., & Ilmiyati, Z. (2014). KARAKTERISTIK PERTUMBUHAN DAN WAKTU GENERASI ISOLAT *Azotobacter* sp. DAN BAKTERI ENDOFITIK ASAL EKOSISTEM LAHAN SAWAH. *Jur. Agroekotek*, 6(1).
- Shofiandi, K., & Ratni, N. (2021). Bioremediasi Tanah Tercemar Hidrokarbon dengan Metode Biostimulasi di Woncolo, Bojonegro. *ESEC*, 2(1).
- Simaria, C., & Pant, G. (2015). Characterization and Evaluation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) Degrading Bacteria Isolated from Oil Contaminated Soil. *Appli Micro Open Access*, 1(1).
- SNI06-6989.10. (2004). *Air dan air limbah – Bagian 10: Cara uji minyak dan lemak secara gravimetri*. Badan Standardisasi Nasional (BSN).
- Sulistyorini, & Ali, M. (2018). Bioremediasi dengan *Pseudomonas putida* Terhadap Pencemaran Tanah Minyak Bumi dengan Bioaugmentasi. *Jurnal Envirotek*, 10(1).
- Syafitri, D., Sayuti, I., & Mahadi, I. (2022). Efektifitas Rasio Nutrien Bakteri *Bacillus cereus* Strain IMB-11 dalam Mendegradasi Pencemaran Biosolar Sebagai Rancangan Poster Biologi SMA. *Jurnal Biogenesis*, 18(1), 54-67.
- Thawil, D. A. (2020). *STUDI LITERATUR : PERTUMBUHAN BAKTERI PADA MEDIA ALTERNATIF PENGGANTI NUTRIENT AGAR*. Naskah Publikasi, Universitas 'Aisyiyah , Teknologi Laboratorium Medis, Yogyakarta.
- Tuhuloula, A., & Juliastuti, S. (2020). Pemanfaatan Bakteri *Bacillus Cereus* pada Proses Bioremediasi Tanah Terkontaminasi Minyak Bumi dengan Metode Slurry Bioreactor. *Journal of Fundamentals and Applications of Chemical Engineering*, 01(02).
- Wang, D., Lin, J., Lin, J., Wang, W., & Li, S. (2019). Biodegradation of Petroleum Hydrocarbons by *Bacillus subtilis* BL-27, a Strain with Weak Hydrophobicity. *Molecules*.
- Wardhani, W., & Titah, H. (2020). Studi Literatur Alternatif Penanganan Tumpahan Minyak Mentah Menggunakan *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas putida* (Studi Kasus: Tumpahan Minyak Mentah Sumur YYA-1). *Jurnal Teknik ITS*, 9(2).

- Welan, Y., Refli, & Mauboy, R. (2019). Isolasi dan Uji Biodegradasi Bakteri Endogen Tanah Tumpahan Oli Bekas di Kota Kupang. *Jurnal Biotropikal Sains*, 16(1), 61-72.
- Zhang, X., Zhao, C., Yu, S., Jiang, Z., Liu, S., Wu, Y., et al. (2020). Rhizosphere Microbial Community Structure Is Selected by Habitat but Not Plant Species in Two Tropical Seagrass Beds. *Frontiers in Microbiology*, 11.
- Zurba, N. (2018). *Pengenalan Padang Lamun, Suatu Ekosistem yang Terlupakan*. Lhokseumawe: Unimal Press.



UIN SUNAN AMPEL
S U R A B A Y A