

**ISOLASI BERTAHAP, KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI
PETROFILIK PENAMBAT NITROGEN SEBAGAI AGEN BIOREMEDIASI
LIMBAH MINYAK BUMI**

SKRIPSI

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains Bidang Studi Biologi**



Oleh :

AJENG NIKEN PRATIWI

09053140005

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS SRIWIJAYA

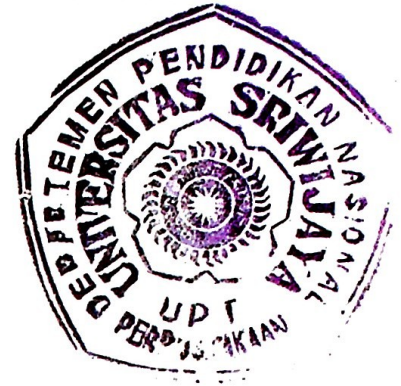
MEI 2010

S
579.307
pra
c-101081
2010

**ISOLASI BERTAHAP, KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI
PETROFILIK PENAMBAT NITROGEN SEBAGAI AGEN BIOREMEDIASI
LIMBAH MINYAK BUMI**

SKRIPSI

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains Bidang Studi Biologi**



Oleh :

AJENG NIKEN PRATIWI

09053140005

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS SRIWIJAYA

MEI 2010

LEMBAR PENGESAHAN

**ISOLASI BERTAHAP, KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI
BAKTERI PETROFILIK PENAMBAT NITROGEN SEBAGAI
AGEN BIOREMEDIASI LIMBAH MINYAK BUMI**

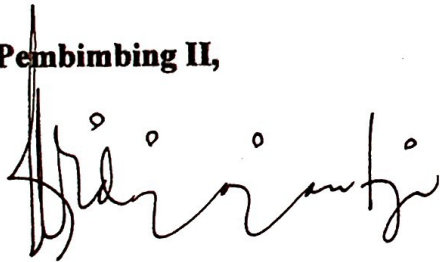
SKRIPSI

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains Bidang Studi Biologi**

Oleh

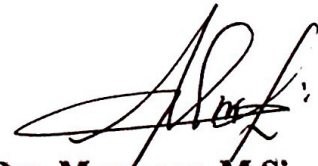
**AJENG NIKEN PRATIWI
09053140005**

Pembimbing II,



**Dra. Hary Widjajanti, M.Si.
NIP. 19611212 198710 2 001**

**Inderalaya, Mei 2010
Pembimbing I,**



**Drs. Munawar, M.Si.
NIP.19680521 199303 1 003**

Mengetahui:

Ketua Jurusan Biologi,



**Dr. Zazli Hanafiah, M.Sc.
NIP. 19590909 198703 1 004**

Motto :

**“Kadang Apa Yang Kita Harapkan dan Rencanakan Tidak
Dapat Berjalan Sesuai Rencana Kita, Ada Halangan maupun
Rintangan Sebelum Mencapai Tujuan dan Cita-Cita. Akan
Tetapi, Tetap Semangat, Jangan Menyerah, Teruslah Berusaha
dan Berdoa Untuk Mencapainya”**

Ku Persembahkan Karya Ini Untuk :

Allah SWT.

Kedua Orangtuaku

Adik-adikku, Pingkan dan Bimo

Orang Tercinta yang Slalu Mendukungku

Dan Almamaterku

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur khadirat Allah SWT yang telah menganugraahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga atas kehendak dan izin-Nya Skripsi ini dapat diselesaikan. Shalawat dan salam dihaturkan kepada Rasullullah SAW, beserta keluarga, sahabat dan pengikutnya hingga akhir zaman.

Skripsi berjudul **Isolasi Bertahap, Karakterisasi Dan Identifikasi Bakteri Petrofilik Penambat Nitrogen Sebagai Agen Bioremediasi Limbah Minyak Bumi**, disusun sebgagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains bidang studi Biologi di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya.

Ucapan terima kasih yang setulusnya disertai dengan segala kerendahan hati dan hormat kepada kedua pembimbing saya, Drs. Munawar, M.Si, atas bimbingan dan kesempatannya terlibat dalam hibah bersaing DIKTI dan Dra. Hary Widjajanti, M.Si yang telah membimbing dan mengarahkan penulis dengan penuh kesabaran, perhatian, dan ikhlas meluangkan waktu, tenaga dan pikiran sehingga selesainya penulisan skripsi ini.

Ucapan terima kasih juga ditujukan kepada :

1. Drs. Muhammad Irfan, M.T selaku Dekan FMIPA Universitas Sriwijaya
2. Dr. Zazili Hanafiah, M.Sc, selaku Ketua Jurusan Biologi terima kasih atas bimbingan dan bantuan yang diberikan selama ini.
3. Drs. Mustafa Kamal, M.Si selaku dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingannya selam masa perkuliahan.

4. Dra. Muharni, M.Si selaku Sekretaris Jurusan Biologi serta selaku dosen pembahas yang telah memberikan koreksi, masukan dan bimbingannya selama penulisan skripsi.
5. Dra. Sri Pertiwi Estuningsih selaku dosen pembahas yang telah memberikan koreksi, masukan dan bimbingannya selama penulisan skripsi ini.
6. Drs. Juswardi, M.Si selaku dosen tamu pada saat sidang yang telah memberikan koreksi dan masukannya pada skripsi ini.
7. Dra. Nita Aminasih, M.P. selaku dosen pengajar dan koordinator pendidikan yang telah membantu kelancaran penulis dalam menyelesaikan skripsi.
8. Seluruh Staf Dosen Pengajar dan Karyawan Jurusan Biologi Fakultas MIPA, Universitas Sriwijaya, yang telah memberikan ilmu dan pengetahuan yang bermanfaat.
9. Bu Yani dan Pak Nanang selaku staff administrasi Jurusan Biologi dan Uni Nia selaku Analis Lab yang ikut membantu kelancaran penulis dalam menyelesaikan skripsi.
10. Papa dan Mama tercinta, adik-adikku tersayang dan Nazaruddin terimakasih atas semua kepercayaan, pengertian, dorongan dan do'a bagi penulis.
11. Teman-teman seperjuangan di Laboratorium Mikrobiologi Rahmi, Ita, Ayu, Karnila, Tere, Eka, Deska, Lina, Diar, Desi, Neli Novi, Winda dan teman-teman lain yang tidak dapat disebutkan satu persatu terimakasih atas kerja samanya di Laboratorium Mikrobiologi.
12. Segenap teman-teman seperjuanganku di angkatan 2005 terimakasih atas kebersamaannya.
13. Adik tingkatku Nanda, Ria Juliyanti dan seluruh adik-adik mahasiswa Biologi angkatan 2006-2009, serta semua pihak yang telah membantu kelancaran penulisan skripsi ini.

Tiada manusia yang sempurna, begitu juga penulis. Namun dengan keterbatasan yang dimiliki, penulis tetap berusaha untuk melakukan yang terbaik. Saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan demi perbaikan skripsi ini. Akhirnya, hanya kepada Allah penulis berserah diri, semoga skripsi ini dapat memberikan kontribusi bagi kemajuan ilmu pengetahuan, bermanfaat bagi mahasiswa dan pembaca.

Inderalaya, Mei 2010

Penulis

SEQUENTIAL ISOLATION, CHARACTERIZATION AND IDENTIFICATION PETROFILIC NITROGEN FIXING BACTERIA AS BIOREMEDIATION AGENTS OF PETROLEUM WASTE

By :

Ajeng Niken Pratiwi
09053140005

ABSTRACT

Sequential isolation, characterization and identification of petrofilic nitrogen fixing bacteria from the area where processing of petroleum contaminated soil in the upstream oil industry area, Talang Jimar, Prabumulih, Sumatera Selatan was done from August 2009 until March 2010 at the Laboratory of Microbiology, Departement of Biology, Faculty of Mathematics and Sciences, University of Sriwijaya, Indralaya. The aims is to get bacteria isolates that have potential to degradate petroleum saturated fraction, aromatic fraction, resin fraction and asphaltene fraction at the same time can fix nitrogen in the soil contaminated with petroleum and knowing the characteristics of bacteria isolates obtained and their identification. Samples were taken from 5 station based on the sample point location D1, D2, D3, D4 and D5. Each station were determined from 3 substations based on the soil depth 0 cm, 15 cm and 30 cm. The result obtained is 15 indigen petrofilic fixing nitrogen bacteria isolates. The result of characterization bacteria, from stage I obtained 4 genera of bacteria which competent degradate saturated fraction were *Azotobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus* and *Mycobacterium*; from stage II obtained 2 genera of bacteria which competent degradate aromatic fraction were *Bacillus* and *Mycobacterium*; from stage III obtained 3 genera of bacteria which competent degradate resin fraction were *Arthrobacter*, *Mycobacterium* and *Micrococcus*; from stage IV obtained 3 genera of bacteria which competent degradate asphaltene fraction were *Bacillus*, *Corynebacterium* and *Micrococcus*.

Key words : Sequential Isolation, Petrofilic Nitrogen Fixing Bacteria



ISOLASI BERTAHAP, KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PETROFILIK PENAMBAT NITROGEN SEBAGAI AGEN BIOREMEDIASI LIMBAH MINYAK BUMI

Oleh :

Ajeng Niken Pratiwi
09053140005

ABSTRAK

Isolasi bertahap, karakterisasi, dan identifikasi bakteri petrofilik penambat nitrogen dari kawasan tempat pengolahan tanah terkontaminasi minyak bumi yang ada di daerah industri minyak hulu, Talang Jimar, Prabumulih, Sumatera Selatan telah dilakukan pada bulan Agustus 2009 sampai Maret 2010 di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Inderalaya. Tujuannya adalah untuk mendapatkan isolat bakteri indigen yang berpotensi mendegradasi petroleum fraksi jenuh, aromatik, resin dan asfalten sekaligus menambat nitrogen dalam tanah terkontaminasi minyak bumi dan mengetahui karakteristik isolat bakteri yang didapat serta identifikasinya. Sampel diambil dari 5 stasiun berdasarkan lokasi titik sampelnya, yaitu D1, D2, D3, D4, dan D5. Masing-masing stasiun ditentukan 3 substasiun berdasarkan kedalaman tanah, yaitu 0 cm, 15 cm dan 30 cm. Hasilnya diperoleh 15 isolat bakteri petrofilik penambat nitrogen berdasarkan karakteristik masing-masing isolat bakteri petrofilik penambat nitrogen, dari tahap I diperoleh empat genera bakteri pendegradasi fraksi jenuh yang termasuk ke genus *Azotobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, dan *Mycobacterium*; dari tahap II diperoleh 2 genera bakteri pendegradasi fraksi aromatik yang termasuk dalam genus *Bacillus* dan *Mycobacterium*; dari tahap III diperoleh 3 genera bakteri pendegradasi fraksi resin yang termasuk dalam genus *Arthrobacter*, *Mycobacterium* dan *Micrococcus*; dari tahap IV diperoleh 3 genera bakteri pendegradasi fraksi asfalten yang termasuk dalam genus *Bacillus*, *Corynebacterium* dan *Micrococcus*.

Kata kunci : Isolasi bertahap, bakteri petrofilik penambat nitrogen



DAFTAR ISI

Halaman judul	i
Halaman pengesahan.....	ii
Halaman Motto dan Persembahan	iii
Kata pengantar	iv
Abstract.....	vii
Abstrak.....	viii
Daftar Isi	ix
Daftar Tabel.....	xi
Daftar Gambar	xii
Daftar Lampiran	xiii
Bab I. Pendahuluan	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	5
1.3. Tujuan Penelitian	6
1.4. Manfaat Penelitian	6
Bab II. Tinjauan Pustaka	
2.1. Tanah Sebagai Sumber Isolat	7
2.2. Bioremediasi Limbah Minyak Bumi	9
2.3. Tipe dan Karakteristik Limbah Minyak Bumi.....	10
2.4. Bakteri Petrofilik Pendegradasi Hidrokarbon.....	15
2.5. Mekanisme Biodegradasi Minyak Bumi oleh Bakteri	18
2.6. Bakteri Penambat Nitrogen.....	21
2.7. Mekanisme Penambatan Nitrogen	24
2.8. Peranan Bakteri Penambat Nitrogen pada Bioremediasi.....	25
2.9. Isolasi Karakterisasi dan Identifikasi	27
Bab III. Metode Penelitian	
3.1. Waktu dan Tempat	32

3.2. Alat dan Bahan	32
3.3. Cara Kerja	
3.3.1. Pengambilan Sampel	33
3.3.2. Pengukuran Faktor Fisika dan Kimia Tempat Pengambilan Sampel	34
3.3.3. Persiapan <i>Soil Extract Medium</i>	34
3.3.4. Isolasi dan Pemurnian	35
3.3.5. Metode Analisis SARA	36
3.3.6. Seleksi Bakteri Penambat Nitrogen	38
3.3.7. Karakterisasi	39
3.4. Identifikasi	45
3.5. Variabel Pengamatan	45
3.6. Penyajian Data	45
Bab IV. Hasil dan Pembahasan	
4.1. Hasil Isolasi dan Pemurnian	46
4.2. Hasil Seleksi Bakteri Petrofilik	50
4.3. Hasil Seleksi Penambat Nitrogen	59
4.4. Karakteristik Isolat Bakteri Petrofilik Penambat Nitrogen	62
4.4.1. Karakteristik Morfologi Koloni	62
4.4.2. Karakteristik Morfologi Sel	64
4.4.3. Uji Fisiologis dengan Reaksi Biokimia	65
4.5. Identifikasi Bakteri Petrofilik Penambat Nitrogen	70
Bab V. Kesimpulan dan saran	
5.1. Kesimpulan	80
5.2. Saran	81
Daftar Pustaka	82
Lampiran	89

DAFTAR TABEL

Tabel.2.1. Contoh Beberapa Mikroorganisme Penambat N dari Udara	23
Tabel.2.2. Perbandingan dari Produksi Nitrogen	27
Tabel.2.3. Metode Untuk Mencirikan Mikroorganisme	30
Tabel.4.1. Hasil Isolasi dan Pemurnian Bakteri dari Tanah Terkontaminasi Minyak Bumi	46
Tabel.4.2. Isolat Bakteri Petrofilik yang Dapat Menambat Nitrogen dari Udara	61
Tabel.4.3. Pengelompokkan Bakteri Petrofilik Pendegradasi Fraksi Jenuh Penambat Nitrogen dari Isolasi Tahap 1.....	72
Tabel.4.4. Pengelompokkan Bakteri Petrofilik Pendegradasi Fraksi Aromatik Penambat Nitrogen dari Isolasi Tahap 2.....	73
Tabel.4.5. Pengelompokkan Bakteri Petrofilik Pendegradasi Fraksi Resin Penambat Nitrogen dari Isolasi Tahap 3.....	74
Tabel.4.6. Pengelompokkan Bakteri Petrofilik Pendegradasi Fraksi Asfalten Penambat Nitrogen dari Isolasi Tahap 4.....	75

DAFTAR GAMBAR

Gambar.2.1. Karakteristik dan Kromatogram masing-masing fraksi Hidrokarbon berdasarkan berat molekul, polaritas, dan biodegradabilitas.....	12
Gambar.2.2. Degradasi Hirokarbon alifatik jenuh melalui oksidasi subterminal	19
Gambar.2.3. Beberapa senyawa antara yang dihasilkan pada degradasi senyawa aromatik	21
Gambar. 4.1. Salahsatu hasil pemurnian.....	46
Gambar. 4.2. Hubungan konsentrasi fraksi (%) dengan tahap isolasi pada sampel D1 ..	51
Gambar. 4.3. Hubungan konsentrasi fraksi (%) dengan tahap isolasi pada sampel D2 ..	53
Gambar. 4.4. Hubungan konsentrasi fraksi (%) dengan tahap isolasi pada sampel D3 ..	53
Gambar. 4.5. Hubungan konsentrasi fraksi (%) dengan tahap isolasi pada sampel D4 ..	53
Gambar. 4.6. Hubungan konsentrasi fraksi (%) dengan tahap isolasi pada sampel D5 ..	54
Gambar. 4.7. Hubungan Fraksi jenuh dengan setiap tahapan isolasi pada lima lokasi sampel.....	55
Gambar. 4.8. Hubungan Fraksi aromatik dengan setiap tahapan isolasi pada lima lokasi sampel.....	56
Gambar. 4.9. Hubungan Fraksi resin dengan setiap tahapan isolasi pada lima lokasi sampel.....	57
Gambar. 4.10. Hubungan Fraksi asfalten dengan setiap tahapan isolasi pada lima lokasi sampel.....	58
Gambar.4.11. Salah satu isolat bakteri yang ditumbuhkan pada medium NDSM dan NDSMm	60

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran I. Komposisi Medium Yang Digunakan	89
Lampiran 2. Komposisi Reagen yang Digunakan pada Karakterisasi	96
Lampiran 3. Bentuk Koloni Standar Pada Medium Agar Tegak	100
Lampiran 4. Bentuk Koloni Standar Pada Medium Agar Miring	100
Lampiran 5. Bentuk Elevasi, Tepian dan Struktur Dalam Bakteri.....	101
Lampiran 6. Bentuk Koloni Standar.....	102
Lampiran 7. Bentuk Koloni Standar pada Medium NB	102
Lampiran 8. Isolat Bakteri Petrofilik Penambat Nitrogen dalam Agar Miring.....	103
Lampiran 9. Morfologi Koloni Bakteri Petrofilik Penambat Nitrogen	103
Lampiran 10. Hasil Uji H ₂ S dan Uji Sitrat	106
Lampiran 11. Hasil Uji Urea, Uji Indol, Uji Katalase.....	107
Lampiran 12. Hasil Uji Gelatin, Uji <i>Methyl Red</i> dan Uji Voges Proskauer	108
Lampiran 13. Hasil Uji Fermentasi Karbohidrat.....	109
Lampiran 14. Hasil Uji Motilitas dan Uji Hidrolisis Pati	110
Lampiran 15. Hasil Uji Hidrolisis Casein dan Uji Hidrolisis Lemak.....	111
Lampiran 16. Peta Lokasi Pengambilan Sampel.....	112
Lampiran 17. Karakteristik tanah terkonaminasi di lokasi pengambilan sampel	113
Lampiran 18. Tabel hubungan konsentrasi fraksi (%) dengan tahap isolasi pada sampel D1, D2, D3, D4 dan D5.....	114

Lampiran 19. Tabel hubungan kandungan fraksi jenuh, aromatik, resin dan asfalten (gram) dengan tahap isolasi pada sampel D1, D2, D3, D4 dan D5	116
Lampiran 20. Bagan Prosedur Isolasi dan Pemurnian Bakteri Secara Bertahap	118

BAB I

PENDAHULUAN



1.1 Latar Belakang

Pencemaran lingkungan oleh limbah minyak bumi terus mengalami peningkatan dan menimbulkan dampak negatif bagi makhluk hidup di Bumi. Keberadaan limbah minyak bumi dapat terjadi di hampir semua aktivitas perminyakan mulai dari tahap eksplorasi, pengilangan hingga ketahap pendistribusian minyak tersebut. Di daerah penghasil minyak dan di area pengestraksian dan pemrosesan minyak, minyak bumi merupakan satu-satunya pencemaran utama di tanah. Kebocoran pipa-pipa penyalur minyak bumi dan kilang minyak berbahaya bagi lingkungan disekitarnya (Tehrani & Herfatmanesh 2007: 71). Limbah minyak bumi ini jika tidak diolah maka akan terakumulasi di dalam tanah dan semakin bertambah banyak.

Menurut peraturan perundangan (PP No. 19/1994) bahwa minyak bumi dikategorikan sebagai limbah B3 (Bahan Berbahaya dan Beracun) sehingga dalam pasal 5 dan 6 disebutkan bahwa setiap penghasil limbah B3 wajib melakukan pengolahan sebelum limbah dibuang atau dilepaskan ke alam.

Berbagai cara telah dilakukan untuk mengolah limbah minyak bumi, baik secara fisika, kimia, maupun biologi. Secara fisika, pemulihan lingkungan yang tercemar oleh minyak bumi memerlukan biaya yang sangat tinggi untuk pengangkutan dan pengadaan energi guna membakar materi yang tercemar. Selain itu, penanggulangan secara fisik umumnya digunakan pada langkah awal penanganan, terutama apabila minyak belum tersebar kemana-mana (Baker & Herson. 1994 *dalam* Nugroho 2006:

83). Pada penanggulangan pencemaran secara kimia, zat-zat kimia yang digunakan untuk menanggulangi tumpahan minyak jauh lebih beracun daripada minyak itu sendiri (Burrige & Shir. 1995 *dalam* Wrabel & Peckol 2000: 135). Kedua cara ini tidak dapat mengolah limbah minyak bumi sampai tuntas sehingga masih perlu dilanjutkan pengolahan secara biologi.

Pengolahan limbah minyak bumi secara biologi, salah satunya adalah dengan menggunakan teknik bioremediasi. Menurut Prijambada & Widada (2006: 1) bahwa bioremediasi merupakan pengelolaan yang mengandalkan degradasi dengan memanfaatkan mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon, merupakan cara yang paling ekonomis dan dapat diterima lingkungan. Menurut Zam (2006: 1) bahwa Bioremediasi merupakan alternatif pengolahan limbah minyak bumi yang menghasilkan senyawa akhir yang stabil dan tidak beracun.

Mikroba yang telah dikenal mempunyai kemampuan tinggi dalam mendegradasi minyak bumi adalah dari jenis bakteri. Bakteri pendegradasi minyak bumi diisolasi dari lingkungan yang telah lama terdedah minyak bumi (Aditiawati *et al.* 2001: 1). Minyak bumi itu sendiri menurut Taki *et al.* (1997: 5) tersusun oleh struktur yang kompleks dan berdasarkan analisis komponen yang rumit terbagi menjadi 4 kelompok utama, yaitu fraksi jenuh, aromatik, resin dan asfalten. Dimana, fraksi jenuh dan aromatik mengandung karbon dan hidrogen sedangkan fraksi resin dan asfalten mengandung karbon, hidrogen, sulfur, oksigen, nitrogen, metal, dan lainnya.

Berdasarkan berat molekul, polaritas dan biodegradabilitasnya, fraksi jenuh lebih mudah terdegradasi dibandingkan dengan fraksi aromatik, resin dan asfalten (Taki *et al.* 1997: 5). Menurut Leahy & Colwell. 1990 *dalam* Suryanto (2003: 1)

bahwa laju biodegradasi senyawa hidrokarbon kompleks dengan berat molekul besar seperti senyawa aromatik, resin dan asfalten lebih lambat dibandingkan dengan senyawa berat molekul rendah.

Isolasi bakteri pendegradasi minyak bumi dapat diarahkan melalui substratnya, yaitu dengan memperkaya medium pengisolasinya dengan fraksi tertentu di dalam minyak bumi (Aditiawati *et al.* 2001: 1). Bakteri yang mula-mula bekerja biasanya merupakan pengoksidasi alkana normal karena fraksi ini mendominasi kebanyakan minyak bumi, lebih mudah larut dalam air dan terdifusi ke dalam membran sel bakteri. Bakteri pendegradasi komponen minyak yang lebih sulit didegradasi berjumlah lebih sedikit dan tumbuh lebih lambat karena kalah bersaing dengan pendegradasi alkana yang memiliki substrat lebih banyak dan lebih mudah didegradasi, sehingga bakteri ini sulit terisolasi. Peran bakteri ini sebenarnya penting dalam melaksanakan degradasi komponen minyak lain yang sulit didegradasi (Horowitz *et al.* 1975: 10).

Bakteri pendegradasi fraksi minyak bumi yang sulit didegradasi dapat diperoleh dengan memanfaatkan fraksi minyak bumi yang masih ada setelah pertumbuhan yang lengkap bakteri pendegradasi awal (Harayama *et al.* 1995 dalam Aditiawati *et al.* 2001: 1). Jenis mikroorganisme yang sudah diketahui dapat memecah hidrokarbon dengan berat molekul rendah seperti etana, propana, dan butana antara lain *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Streptomyces*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, kelompok bakteri cocci. Senyawa hidrokarbon dengan berat molekul tinggi dapat didegradasi oleh berbagai kelompok bakteri seperti *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Corynebacterium*, *Acinetobacter*, *Bacillus*. Adapun kelompok mikroorganisme khususnya bakteri yang dapat mendegradasi hidrokarbon aromatik seperti fenol,

naftalena, dan antrasena, yang berisi satu, dua dan tiga cincin benzen adalah *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus* dan *Nocardia* (Alexander 1977: 211-215).

Untuk memperoleh kelompok isolat bakteri petrofilik yang mampu mendegradasi fraksi jenuh, aromatik, resin dan asfalten perlu dilakukan teknik isolasi bertahap, dimana sumber karbon yang digunakan berasal dari minyak bumi sisa degradasi bakteri tahap sebelumnya.

Untuk meningkatkan kinerja agen biologis tersebut perlu dilakukan penambahan nutrien. Menurut Tehrani & Herfatmanesh (2007: 72) bahwa faktor-faktor seperti temperatur, kelembaban, kesediaan oksigen, dan penambahan nutrien mempengaruhi laju biodegradasi limbah minyak bumi oleh bakteri di tanah. Salah satu nutrien yang diperlukan adalah nitrogen. Menurut Nugroho (2006: 83) bahwa kemampuan bakteri yang menggunakan minyak bumi secara langsung sebagai sumber karbon dapat dipacu oleh kondisi lingkungan yang sesuai antara lain dengan penambahan sumber nitrogen. Menurut Burdass (2005: 188) bahwa nitrogen sangat diperlukan oleh semua organisme hidup untuk sintesis molekul organik seperti asam amino, asam nukleat dan protein. Sumber nitrogen yang didapatkan bakteri pada proses bioremediasi biasanya berasal dari penambahan pupuk mengandung nitrogen seperti pupuk urea. Penambahan pupuk yang mengandung nitrogen secara terus menerus akan membuat karakteristik tanah berubah selain itu pemakaian pupuk akan menambah biaya yang cukup mahal.

Menurut Pelczar & Chan (1993: 786) Bakteri penambat nitrogen merupakan penyedia nitrogen terbesar dari seluruh jumlah nitrogen yang tersedia di tanah. Selain itu, menurut Syakti (2005: 3), bahwa adanya bahan cemaran limbah minyak bumi

menyebabkan mikroorganisme, terutama bakteri, yang ada di alam beradaptasi dengan lingkungan yang tercemar limbah, sehingga mampu tumbuh pada lingkungan yang tercemar bahkan mampu memanfaatkan komponen limbah sebagai sumber karbon dan energinya.

Menurut penelitian Eckford *et al.* (2002: 5181) telah ditemukan lima isolat bakteri di tanah antartik yang terkontaminasi minyak dan dapat menambat nitrogen pada kondisi heterotropik. 3 diantaranya merupakan genus *Pseudomonas* sp, kemudian *Azospirillum basilense* dan *Aquaspirillum* sp. Berdasarkan informasi di atas, maka perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan isolat bakteri yang mempunyai kemampuan untuk mendegradasi hidrokarbon minyak bumi fraksi jenuh, fraksi aromatik, fraksi resin dan fraksi aspalten melalui isolasi bertahap serta mampu memfiksasi nitrogen dari udara pada tanah yang terkontaminasi minyak bumi.

1.2 Perumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Bagaimana mendapatkan isolat bakteri petrofilik yang mampu mendegradasi fraksi jenuh, fraksi aromatik, fraksi resin dan fraksi aspalten yang sekaligus mampu menambat nitrogen dari tanah terkontaminasi minyak bumi.
2. Bagaimana karakteristik dari masing-masing isolat bakteri yang mampu mendegradasi hidrokarbon minyak bumi fraksi jenuh, fraksi aromatik, fraksi resin dan fraksi aspalten secara bertahap sekaligus mampu menambat nitrogen yang telah diperoleh dari tanah yang terkontaminasi minyak bumi.

3. Termasuk ke dalam genus apa isolat bakteri yang didapat berdasarkan karakteristik yang dimilikinya.

1.3 Tujuan Penelitian

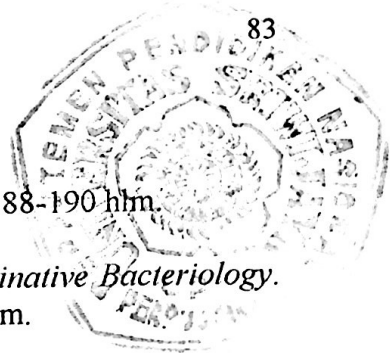
Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri yang berpotensi mendegradasi hidrokarbon minyak bumi fraksi jenuh, fraksi aromatik, fraksi resin dan fraksi asfalten sekaligus menambat nitrogen dari tanah terkontaminasi minyak bumi dan mengetahui karakteristik isolat bakteri yang didapat serta identifikasinya.

1.4 Manfaat Penelitian

Pada penelitian ini diharapkan didapat isolat-isolat bakteri yang memiliki potensi untuk mendegradasi komponen hidrokarbon minyak bumi fraksi jenuh, fraksi aromatik, fraksi resin dan fraksi asfalten sekaligus penambat nitrogen dalam limbah minyak bumi, sehingga menjadi satu informasi untuk mengembangkan suatu agen biologis yang dapat dipakai untuk proses bioremediasi yang dapat menyediakan nitrogen sebagai nutrisinya.

DAFTAR PUSTAKA

- Aagot, N., Ole, N., Preben, N., Kaare, J. 2001. An Altered *Pseudomonas* Diversity Is Recovered from Soil by Using Nutrient Poor *Pseudomonas*-Selective Soil Extract Media. *Applied and Environmental Microbiology*. USA. 67 (11): 5233-5239 hlm.
- Aditiawati, P., Megga, R.P., & Dea, I.A. 2001. Isolasi Bertahap Bakteri Pendegradasi Minyak Bumi Dari Sumur Bangko. *Proceeding Simposium Nasional IATMI*. Yogyakarta. 1-8 hlm.
- Alexander, M. 1977. *Introduction to Soil Microbiology*. Second Edition. Jhon Willey & Sons. New York. xi + 467 hlm.
- Anderson, D.A. 1973. *Introduction to Microbiology*. C.V. Mosby Company. Saint Louis. 391 hlm.
- Anonim^a. Bioremediation. <http://pkrit.ugm.ac.id/files/irfan.pdf>. 29 Februari 2009.
- Anonim^b. 2008. Strategi Pengendalian Pencemaran Lingkungan. <http://www.hukum.jogja.go.id/cetak.php?id=71>. 21 Maret 2009.
- Anonim^c. 2005. Teknologi Menyelaraskan Industri dan Lingkungan. <http://www.bpmigas.com/kegiatan-iptek-detail.asp?id=2005030053>. 21 Maret 2009.
- Anonim^d. 2008. Bakteri Hidrokarbonoklastik. 2 hlm. <http://www.forumsains.com/profile/aQ1?sa=showPost>. 24 April 2008.
- Atlas, R. M. 1995. *Handbook of Media For Environmental Microbiology*. University of Louisville. CRC Press. USA. iv + 540 hlm.
- Atlas, R.M. & Bartha, R. 1998. *Microbial ecology " fundamentals and applications 4th Edition*. Addison Wesley Longman, Inc. California, USA. Chapter 13-14.
- Auflem, I.H. 2002. Influence of Asphaltene Aggregation and Pressure on Crude oil Emulsion Stability. *Thesis of Doctor Ingenior*. Depatment of Chemical Engineering. Norwegian University of Science and Technology. Trondheim.
- Barraquio., W.L., Dumont., Roger., K. 1988. Enumeration of Free-Living Aerobic N₂-Fixing H₂-Oxidizing Bacteria by Using a Heterotrophic Semisolid Medium and Most-Probable-Number Technique. *Applied and Environmental Microbiology*. Canada. 54 (6): 1313-1317.
- Budianto, H. 2008. Perbaikan Lahan Terkontaminasi Minyak Bumi Secara Bioremediasi. <http://www.iee.co.id/bioremediasi1.html>. 21 Maret 2009.



- Burdass, D. 2005. The Nitrogen Cycle. *Articles Microbiology Today*. 188-190 hlm.
- Buchanan, R.E., & Gibbons, N.E. 1975. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Eighth Edition. The William & Wilkins Company. USA. 1268 hlm.
- Cappuccino, J.G. & Sherman, N. 1992. *Microbiology a Laboratory Manual*. The Benjamin/Cumming Publishing. USA. 458 hlm.
- Dunn, K., G.V. Chilingarian, and T.F. Yen. 2000. Bitumens: *Liquid Chromatography*. Academic Press. Los Angeles.
- Eckford, R., Fred, D. C., David, S., Jackie, A., & Julia, F. 2002. Free-Living Heterotrophic Nitrogen-Fixing Bacteria Isolated from Fuel-Contaminated Antarctic Soils. *Applied and Environmental Microbiology*. USA. 68 (10): 5181-5185.
- Eweis, J.B., Ergas, S.J., Chang, D.P.Y. & Schroeder, E.D. 1998. Bioremediation Principles. McGraw-hill. International Edition. Civil Engineering Series. Singapore. Xvi + 296 hlm.
- Fahrudin. 2004. Dampak Tumpahan Minyak Pada Biota Laut. <http://www2.Kompas.com/kompas-cetak/0403/17/ilpeng/918248>. 21 Maret 2009.
- Fajrin, A.M. 2008. Komponen Penyusun Minyak Bumi. <http://hmtlupnv.blogspot.com/>. 21 Maret 2009.
- Funke, B.R. 1995. *Study Guide for Microbiology An Introduction*. 4th Edition. The Benjamin/Cumming Publish. California. USA: 281 p.
- Gordon, R. 1994. Bioremediation and its Application to Exxon Valdez Oil Spill in Alaska. <http://www.geocities.com/CapeCanaveral/Lab/2094/>. 28 Januari 2009.
- Guerinot, M. L., & Colwell, R. R. 1985. Enumeration, Isolation, and Characterization of N₂- Fixing Bacteria From Seawater. *Applied and Environmental Microbiology*. USA. 50 (2): 350-355.
- Hadi, S. N. 2003. Degradasi Minyak Bumi via Tangan Mikroorganisme. Pasca Sarjana Departemen Biokimia IPB. <http://www.chem-is-try.org/?sect=artikel&ext=64>. 21 Maret 2009.
- Hadioetomo, R.S. 1993. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek. Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Penerbit PT. Gramedia Pustaka. Jakarta. xi + 163 hlm.
- Horowitz, A., David, G., Eugene, R. 1975. Sequential Growth of Bacteria on Crude Oil. *Applied Microbiology*. American Society for Microbiology. USA: 30 (1). 10-19.

- Hubell, D.H., & Kidder, G. 1992. Biological Nitrogen Fixation. *IFAS Extension*. University of Florida. 4 hlm.
- Irianto, A., Oedjiono, Agus, R., & Samsul, K. 2003. Bioaugmentasi Benzena Tanah Tercemar Hidrokarbon yang Dibiodegradasi secara *In Vitro* Menggunakan *Bacillus* sp. Strain U41 dan U44. *Jurnal Biota*. 8 (3): 101-106.
- Irianto, K. 2006. *Mikrobiologi Mengungkap Dunia Mikroorganisme*. Jilid 1. PT. Yrama Widya. Jakarta: 256 hlm.
- Irianto, K. 2006. *Mikrobiologi Mengungkap Dunia Mikroorganisme*. Jilid 2. PT. Yrama Widya. Jakarta: 304 hlm.
- Isminarni, F., Sri, W., Jaka, W., Benito, H.P. 2007. Penambatan Nitrogen dan Penghasilan Indol Asam Asetat oleh Isolat-Isolat *Azotobacter* Pada pH Rendah dan Aluminium Tinggi. *Jurnal Ilmu Tanah & Lingkungan*. 7 (1): 23-30.
- Jutono, J., Soedarsono., Hartadi, S., Kabirun, S. & Susanto. 1973. *Pedoman Praktikum Mikrobiologi Umum Untuk Perguruan Tinggi*. Departemen Mikrobiologi. Fakultas Pertanian Universitas Gajah Mada. Yogyakarta. xii + 232 hlm.
- Khan, Md. H.R., Mohiuddin., M., Rahman. 2008. Enumeration, Isolation and Identification of Nitrogen-Fixing Bacterial Strain at Seedling Stage in Rhizosphere of Rice Grown in Non-Calcareous Grey Food Plain Soil of Bangladesh. *Journal of the Faculty of Environmental Science and Technology*. Okayama University. 13 (1): 97-101.
- Knezevich, V., Omry, K., Eliora, Z.R., Eugene, R. 2006. Petroleum Bioremediation in Seawater Using Guano as the Fertilizer. *Bioremediation Journal*. 10 (3): 83-91.
- Komariah, K. 2008. Isolasi, Seleksi, dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Amoniak dari Limbah Cair PT. Pupuk Sriwidjaja Palembang. *Skripsi Sarjana Sains Bidang Studi Biologi*. F-MIPA Biologi. Universitas Sriwijaya. 67 hlm. (Tidak Dipublikasikan).
- Kurnia, U., Husen., Saraswati., & Nurjaya. 2001. Teknologi Pengendalian Pencemaran Lahan Sawah. *Prosiding Seminar Peningkatan Kualitas Lingkungan dan Produksi Pertanian*, 249-282 hlm.
- Lay, B.W., & Hastowo, S. 1992. *Mikrobiologi*. Rajawali Pers. Jakarta. viii + 376 hlm.
- Lay, B.W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta. 168 hlm.
- Lajudie, P., Etike, L.F., Anne, W., Urbain, T., Renata, C., Matthew, D.C., Karel, K., Bernard, D., Monique, G. 1998. *Allorhizobium undicola* gen. nov., sp. Nov.,

Nitrogen-Fixing Bacteria That Efficiently Nodulate *Neptunia natans* in Senegal. *International Journal of Systematic Bacteriology*. Great Britain. 48: 1277-1290.

- Lorenz, M. G., & Wackernagel, W. 1991. High Frequency of Natural Genetic Transformation of *Pseudomonas stutzeri* in Soil Extract Supplemented With a Carbon/Energy and Phosphorus Source. *Applied and Environmental Microbiology*. USA. 57 (4): 1246-1251.
- Medred, R. 1989. Bacteria Devour Spill Oiled. *Article*. <http://www.adn.com/evos/stories/EV117.html>. 1 April 2010.
- Munawar. 1999. Bioremediasi In Vitro Limbah Industri Pengilangan Minyak Bumi Oleh Bakteri Hidrokarbonoklastik. *Jurnal Penelitian Sains*. 6 : 44-49.
- Munawar. 1999. Isolasi dan Uji Kemampuan Isolat Bakteri Rhizosfir dari Hutan Bakau di Cilacap Dalam Mnedegradasi Residu Minyak. *Tesis Magister ITB*: 93 hlm.
- Munawar. 2002. Pengaruh Pemberian Fasilitas Aerasi Pada Proses Bioremediasi Limbah Minyak Bumi. *Jurnal Ilmiah MIPA*. V (1) : 52-57.
- Munawar. 2006. *Diktat Kuliah Biostatistika*. Jurusan Biologi. FMIPA. UNSRI. 40 hlm.
- Muntamah. 2001. Isolasi, Seleksi, dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Hidorkarbon Dari Sungai Komerang yang Tercemar Limbah Industri Pengolahan Minyak Bumi PERTAMINA UP III Plaju-Palembang. *Skripsi Sarjana Sains Bidang Studi Biologi*. FMIPA-Biologi. Universitas Sriwijaya. 47 hlm. (Tidak Dipublikasikan).
- Nugroho, S. B. 1998. Studi Pencemaran Tanah Oleh Hidrokarbon dari Minyak Bumi di PT. Unilever Jakarta dan Perumusan Langkah Pemulihannya. *Tesis : Abstrak*. Jurusan Teknik Lingkungan ITB. Bandung.
- Nugroho, A. 2006. Biodegradasi Sludge Minyak Bumi Dalam Skala Mikrokosmos : Simulasi Sederhana Sebagai Kajian Awal Bioremediasi Land Treatment. *Makara Teknologi*. 10 (2): 82-89.
- Parlina, I. 2009. Nutrisi Untuk Bakteri Pengolahan Limbah. <http://iinparlina.wordpress.com/2009/06/12/about-nutrisi-buat-pengolahan-limbah>. 1 Mei 2010.
- Pelczar, M.J. & E.C.S, Chan. 1993. *Microbiology Concept and Applications*. McGraw-Hill, Inc. North America : xxiv + 896 hlm.
- Pelczar, M.J. & E.C.S, Chan. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jilid ke-1. Hadioetomo, R.S., Teja, I., S.S, Tjitrosomo, Sri, L.A (Penterjemah). UI-Press. Jakarta : viii + 443 hlm.

- Pelczar, M.J. & E.C.S, Chan. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jilid ke-2. Hadioetomo, R.S., Teja, I., S.S, Tjitrosomo, Sri, L.A (Penterjemah). UI-Press. Jakarta : viii + 997 hlm.
- Pikoli, M.R., Pingkan, A., & Dea, I.A. 2000. Isolasi Bertahap dan Identifikasi Isolat Bakteri Termofilik Pendegradasi Minyak Bumi dari Sumur Bangko. *Proseding Institut Teknologi Bandung*. 1-8.
- Pradhika, E. I. 2009. Mikro-Ba nget. http://ekmon-saurus.blogspot.com/bab_9-aktivitas-enzimatis. 10 April 2010.
- Prescott, L. W., Harley, J. P., & Donald A. 2005. *Microbiology*. Second Edition. Wm. C. Brown Publisher. United State of America. xxxii + 912 hlm.
- Prijambada, I.D. & Widada, J. 2006. Mitigasi dan Bioremediasi Lahan Tambang Minyak. *Seminar Nasional PKRLT. Fakultas Pertanian UGM*. Intisari. 1-2.
- Rao, N.S.S. 1994. *Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman*. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta. xiii + 353 hlm.
- Ray, S., Gachhui, K., Pahan, K., Chaudhury, J., & Mandal, A. 1989. Detoxification of Mercury and Organomercurials by Nitrogen-Fixing Soil Bacteria. *Journal Biosci. India*. 14 (2): 173-182.
- Reid, G. & Wong, P. 2005. Soil Bacteria. *Articles*. NSW Departement of Primary Industries. 1-2.
- Robertus. 2008. Penambahan Nutrisi Pada Proses Bioremediasi. *Makalah* . 1-4.
- Sakina, N.N. 2009. Pencemaran Tanah oleh Pupuk. *Karya Tulis Ilmiah*. <http://ilmuwanmuda.wordpress.com/pencemaran-tanah-oleh-pupuk/>. 21 Maret 2009.
- Saraswati, R., & Sumarno. 2008. Pemanfaatan Mikroba Penyubur Tanah Sebagai Komponen Teknologi Pertanian. *Iptek Tanaman Pangan*. 3 (1): 41-58.
- Siregar, A. 2008. Kerusakan Tanah Dan Upaya Mempertahankan Kesuburannya. <http://arkanagh44.blogspot.com/2008/12/kerusakan-tanah-dan-upaya.html>. 21 Maret 2009.
- Sofa, P. 2008. Penanganan Limbah dengan Bioremediasi. <http://massofa.wordpress.com/2008/10/14/penanganan-limbah-dengan-bioremediasi/>. 21 Maret 2009.

- Suhardi, H. S. 2008. Mengajak Mikroorganismen Bertarung di Lingkungan Terbuka. *Abstrak : Seminar dosen ITB. Aplikasi Teknik Biopile di ConocoPhilips Indonesia, Sumatera Operation.*
- Sukarmin. 2004. *Hidrokarbon dan Minyak Bumi.* Departemen Pendidikan Nasional. Jakarta: x+54 hlm.
- Sumarsih, S. 2009. Penambat Nitrogen Udara. *Kuliah Bioteknologi Tanah PPT.* Jurusan Ilmu Tanah. FPUPNVY.
- Suriawiria, U. 1990. *Pengantar Mikrobiologi Umum.* Penerbit Angkasa. Bandung. ix + 237 hlm.
- Sutedjo, M.M., A.G., Kartasapoetra, & S., Sastroatmodjo. 1991. *Mikrobiologi Tanah.* PT. Rineka Cipta. Jakarta. xxi + 447 hlm.
- Suryanto, D. 2003. Biodegradasi Aerobik Senyawa Hidrokarbon Aromatik Monosiklis Oleh Bakteri. *Digital Library.* Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara: 1-13.
- Syakti, A.D. 2004. Bioremediasi Lingkungan. <http://freelists.org/archives/ppi/10-2004/msg02509.html>. 23/10/2004. 21 Maret 2009.
- Syakti, A.D. 2005. Multi-Proses Remediasi Di dalam Penanganan Tumpahan Minyak (Oil Spill) Di Perairan Laut dan Pesisir. *Seminar Bioremediasi.* http://pksplipb.or.id/index.php?option=com_content&task=view&id=39&Itemid=1. 10/12/2005. 21 Maret 2009.
- Syarifudin, A. 2002. Teknik Identifikasi Mikroorganismen Penyedia Unsur Hara Tanaman pada Ultisols Pulau Buru. *Buletin Teknik Pertanian.* 7 (1): 21-24.
- Taki, H., Yoh, T., Shigeaki, H. 1997. Bioremediation of Spilled Oil. Technology Center, Taisei Corporation. National Institute of Technology and Evaluation. Marine Biotechnology Institute. Japan. 11 hlm.
- Tehrani, D. M., & Herfatmanesh, A. 2007. Biodegradation of Aliphatic and Aromatic Fraction of Heavy Crude Oil-Contaminated Soil : A Pilot Study. *Bioremediation Journal.* Shahid Beheshti University. Tehran. Iran. 11 (2): 71-76.
- Tortora, G.J., Berdell, R.F., Christine, L.C. 1998. *Mikrobiologi an Introduction.* Sixth Edition. The Benjamin/Cumming Publishing Company. California. xxiii + 832 hlm.
- Vadakattu, G., & Paterson, J. 2006. *Free-Living Bacteria Lift Soil Nitrogen Supply.* Kondinin Group & CSIRO. 1 hlm.

- Vasquez, D. & G.A. Mansoori. 2000. Identification and Measurement of Petroleum Precipities. *J. Petrol. Sci. & Engineering*. 26: 49-56.
- Vilain, S., Yun, L., Michael, B.H., Volker, S.B. 2006. Analysis of the Life Cycle of The Soil Saprophyte *Bacillus cereus* in Liquid Soil Extract and in Soil. *Applied & Environmental Microbiology*. USA. 72 (7): 4970-4977 hlm.
- Webb, G. 2008. Nitrogen Fixing Bacteria in Agriculture-Now a Real Option. *Articles Agricultural Consultant*. 7 hlm.
- Wrabel, M.L., & Peckol, P. 2000. Effect of Bioremediation Toxicity Effect of Bioremediation on Toxicity and Chemical Composition of No. 2 Fuel Oil : Growth Responses of the Brown Alga *Fucus vesiculosus*. *Marine Pollution Bulletin*. 40 (2): 1-135.
- Zam, S.I. 2006. Bioremediasi Limbah Pengilangan Minyak Bumi PERTAMINA UP II Sungai Pakning dengan Menggunakan Bakteri Indigen. *Tesis: Abstrak*. Program Studi Bioteknologi, Institut Teknologi Bandung: 1-16.