

**ANALISIS HASIL ISOLASI BAKTERI LOKAL TERHADAP  
KEMAMPUANNYA MENDEGRADASI BERBAGAI JENIS MINYAK  
BUMI**  
**ANALYSIS OF ISOLATION LOCAL BACTERIA THAT ABILITY TO  
DEGRADING VARIOUS TYPES OF OIL**

**Himawan Ganjar P<sup>1</sup> dan Edwan Kardena<sup>2</sup>**

Program Studi Teknik Lingkungan  
Fakultas Teknik Sipil dan Lingkungan, Institut Teknologi Bandung  
Jl. Ganesha No. 10 Bandung 40132

<sup>1</sup>himawan.g@students.itb.ac.id dan <sup>2</sup>kardena@pusat.itb.ac.id

**Abstrak:** Salah satu yang kasus yang sering terjadi di Indonesia yang berkaitan dengan minyak bumi adalah terjadinya kontaminasi minyak ke tanah. Salah satu cara penanganannya adalah dengan pengolahan secara biologi dengan menggunakan bakteri. Sebelum dilakukan pengolahan, bakteri harus diuji terlebih dahulu untuk mengetahui kemampuannya dalam mendegradasi minyak. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh isolat terbaik yang mampu mendegradasi beberapa jenis minyak bumi. Penelitian ini menggunakan bakteri lokal yang terdapat pada tanah yang diindikasikan tercemar oleh oli. Penelitian diawali dengan mengisolasi bakteri yang berasal dari tanah tercemar oli ke media agar kaya nutrisi. Bakteri yang tumbuh dipilih beberapa untuk kemudian dimurnikan dan diuji pada media cair SBS (Standar Basal Salt) dengan tambahan berbagai jenis minyak yang akan diuji. Minyak yang akan diujikan berupa minyak tanah, solar, dan oli. Masing-masing minyak yang diujikan akan divariasikan dengan komposisi 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%, dan 0,6%. Uji degradasi minyak dilakukan selama 7 hari dengan rentang waktu 1 hari sekali. Hasilnya pertumbuhan diperoleh dua isolat yang memiliki kemampuan mendegradasi minyak yaitu isolat A-1 (*Bacillus simplex*) dan A-2 (*Bacillus firmus*). Uji pendegradasian bakteri terhadap minyak tanah, solar, dan oli dilakukan untuk mengetahui kinetika pertumbuhan bakteri. Hasil dari kinetika menunjukkan bahwa *Bacillus simplex* memiliki  $K_s = 4,26$  g/L dan  $\mu_{maks} = 0,090$ /hari pada minyak tanah,  $K_s = 3,68$  g/L dan  $\mu_{maks} = 1,240$ /hari pada solar, dan  $K_s = 2,06$  g/L dan  $\mu_{maks} = 0,240$ /hari pada oli. Untuk *Bacillus firmus*  $K_s = 0,69$  g/L dan  $\mu_{maks} = 0,056$ /hari pada minyak tanah,  $K_s = 8,00$  g/L dan  $\mu_{maks} = 1,127$ /hari pada solar, dan  $K_s = 13,36$  g/L dan  $\mu_{maks} = 0,543$ /hari pada oli. Dari hasil tersebut diketahui bahwa *Bacillus simplex* paling baik untuk mendegradasi minyak terutama pada jenis solar.

**Kata kunci:** bakteri lokal, degradasi, isolat bakteri, minyak, Standard Basal Salt

**Abstract :** One of the cases that often occur in Indonesia which associated with petroleum is oil contaminated to soil. One of the methode to handling this is with biology process using the bacteria. Before do the process, bacteria must have tested before to know that ability for petroleum degradation. The purpose of this research is to get the best isolate for degrading some kind of petroleum. This reasearch is used local bacteria that obtained from soil indicated contaminated with oil. The research begin with isolation bacteria from contaminated soil with oil to rich nutrition agar. Bacteria were grown selected some for later purified and tested in liquid SBS medium with the addition of various types of oil to be tested. The oil will be tested in the form of kerosene, diesel, and oil. Each oil is tested to be varied with the composition of 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5%, and 0.6%. Oil degradation test performed for 7 days with 1 day of observation time span once. The results are found two kind of isolates that have skill to degradation oil that isolates are isolate A-1 (*Bacillus simplex*) and A-2 (*Bacillus firmus*). Bacteria degaradation test of kerosene, diesel, and oil did to know kinetic growth bacteria. Result from kinetic growth show that *Bacillus simplex* had  $K_s = 4,26$  g/L and  $\mu_{maks} = 0,090$ /day on kerosene,  $K_s = 3,68$  g/L and  $\mu_{maks} = 1,240$ /day on diesel, and  $K_s = 2,06$  g/L and  $\mu_{maks} = 0,240$ /day on oil. For *Bacillus firmus*  $K_s = 0,69$  g/L and  $\mu_{maks} = 0,056$ /day on kerosene,  $K_s = 8,00$  g/L and  $\mu_{maks} = 1,127$ /day on diesel, and  $K_s = 13,36$  g/L and  $\mu_{maks} = 0,543$ /day on oil. From that result know *Bacillus simplex* is the best for petroleum degradation especially for diesel.

**Keywords :** bacterial isolates, degradation, local bacteria, oil, Standard Basal Salt

## PENDAHULUAN

Salah satu kasus yang sering terjadi di Indonesia yang berkaitan dengan minyak bumi adalah terjadinya kontaminasi petroleum hidrokarbon ke tanah.

Kontaminasi hidrokarbon biasanya berasal dari aktivitas pertambangan yang terjadi akibat kurangnya kehati-hatian dalam menyimpan bahan bakar seperti solar sehingga timbul tumpahan, kemudian adanya kebocoran dari tangki penyimpanan dan pipa, dan penyimpanan oli bekas yang tidak dibatasi oleh kolam (Smith *et al.*, 2015). Sebagai konsekuensinya pemerintah sebagai pengatur harus memiliki rekomendasi untuk batas konsentrasi hidrokarbon yang diizinkan agar tidak melampaui dan dapat mengganggu kesehatan manusia dan lingkungan (Duan *et al.*, 2013)

Dalam mengatasi masalah ini, secara umum dilakukan metode pengolahan secara biologi. Hal ini dikarenakan metode pengolahan secara fisika dan kimia untuk mereduksi polutan hidrokarbon sangat mahal, membutuhkan waktu yang lama, dan tidak ramah lingkungan. (Mandri dan Lin 2007; Van Hamme *et al.*, 2003). Oleh karena itu, bioremediasi adalah pilihan metode yang cukup menjanjikan dalam menyisihkan polutan hidrokarbon di lingkungan (Obayori, 2009).

Bioremediasi adalah proses pengolahan minyak bumi yang sudah lama atau tumpahan/ceciran minyak pada lahan terkontaminasi dengan memanfaatkan makhluk hidup mikroorganisme, tumpahan atau organisme lain untuk mengurangi konsentrasi atau menghilangkan daya racun bahan pencemar (KepMen LH No. 128, 2003).

Bioremediasi merupakan suatu cara pengolahan dengan memanfaatkan mikroorganisme untuk menghilangkan racun atau polutan menggunakan berbagai macam kemampuan metabolismenya untuk menghilangkan dan mendegradasi polutan di lingkungan. Selain itu, pengolahan ini juga bersahabat dengan lingkungan dan tidak terlalu mahal bila dibandingkan dengan pengolahan secara fisika dan kimia seperti pirolisis, insinerasi, dan lain-lain (Bao *et al.*, 2012; Ferradji *et al.*, 2014)

Sebelum melakukan bioremediasi pada tanah yang tercemar sebaiknya dilakukan uji laboratorium terhadap bakteri yang akan digunakan untuk mengetahui kemampuannya dalam mendegradasi minyak. Untuk memperoleh bakteri yang bisa dipergunakan untuk mendegradasi minyak, dapat diperoleh dengan cara membuat isolat bakteri dari tanah yang telah tercemar minyak.

Bakteri yang telah mampu hidup dalam lingkungan yang tercemar oleh hidrokarbon dapat dikatakan telah mampu beradaptasi dengan lingkungannya. Berdasarkan hal tersebut penelitian ini dilakukan. Untuk memperoleh isolat bakteri yang mampu mendegradasi hidrokarbon yang kemudian akan dapat dimanfaatkan untuk proses bioremediasi pada tanah tercemar hidrokarbon lainnya .

## MATERIAL DAN METODOLOGI

Beberapa penelitian telah menemukan adanya mikroorganisme yang dapat mendegradasi hasil olahan minyak bumi seperti oli, minyak tanah dan solar. Umumnya mikroorganisme tersebut ditemukan dari sampel tanah yang tercemar oleh minyak, oleh karena itu penelitian dimulai dengan pengambilan sampel tanah yang diduga terkontaminasi oleh minyak oli. Sehingga diharapkan akan diperoleh mikroorganisme yang mampu mendegradasi berbagai hasil olahan minyak bumi. Secara garis besar metodologi penelitian dapat dilihat pada **Gambar 1**.

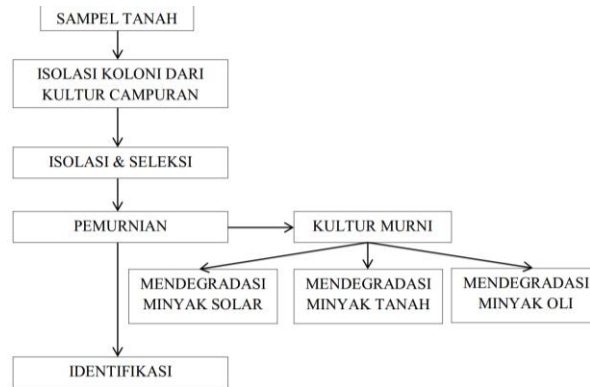
### Sumber Mikroorganisme

Sumber mikroorganisme diperoleh dari tanah suatu bengkel kendaraan bermotor di daerah Husein Sastranegara, Kota Bandung, Jawa barat yang diduga telah terkontaminasi oleh oli sehingga diharapkan akan ditemukan mikroorganisme yang mampu mendegradasi minyak.

### Media Pertumbuhan

Media pertumbuhan mikroorganisme terbagi menjadi dua yaitu media cair dan media agar. Pada media cair yang digunakan adalah medium SBS (*Standard Basal Salt*) dengan kandungan  $\text{KH}_2(\text{PO}_4)$  0.135 gr,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.450 gr,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.135 gr, dan  $\text{MgSO}_4$  0.060 gr per 500 ml aquadest. Media ini disterilisasi dengan autoclaf pada kondisi 121°C selama 15 menit kemudian didinginkan hingga sama dengan suhu ruangan.

Media agar yang digunakan terdiri dari dua jenis yaitu media agar SBS dan media agar kaya nutrisi. Perbedaan dari agar SBS dan agar kaya nutrisi adalah pada agar kaya nutrisi ditambahkan *yeast extract* sebanyak 0,135 gr per 500 ml. Media agar dibuat dengan menambahkan agar Bakteriologi sebanyak 1% (w/v) ke media cair. Kemudian media disterilisasi pada autoclaf dengan kondisi yang sama dengan medium cair. Setelah agar mengeras dioleskan oli sebanyak 0,1 ml sebagai sumber karbon.



**Gambar 1** Metodologi penelitian

### Sumber Karbon dan Zat Kimia

Sumber karbon dalam eksperimen ini adalah oli bekas kendaraan khususnya motor yang diperoleh dari bengkel kendaraan bermotor, minyak tanah dari warung, dan solar jenis Pertamina DEX (Diesel Environmental Extra) dari stasiun pengisian bahan bakar minyak.

### Isolasi, Seleksi, dan Pemurnian Bakteri Pendegradasi Minyak

Pada penelitian proses isolasi dan pemurnian dilakukan dengan menggunakan media agar kaya nutrisi dan agar SBS. Sedangkan untuk uji biodegradasi minyak dipergunakan media SBS cair dengan tambahan minyak sesuai dengan konsentrasi yang telah ditentukan dalam reaktor yang berupa gabungan dari erlenmeyer dan *shaker*.

#### 1. Isolasi bakteri dari kultur campuran

Mikroorganisme dari tanah diisolasi dengan cara memasukkan 5 gram tanah ke dalam tabung reaksi 20 ml dan ditambahkan 10 ml aquades kemudian diletakkan pada *vortex* hingga tanah dan aquades teraduk merata selama 2 menit. Air dari hasil pencampuran diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan kedalam aquades 9 ml. Aquades kemudian diaduk kembali dengan *vortex* selama 2 menit. Ambil kembali 1 ml hasil pencampuran ke aquades 9 ml selanjutnya. Pengulangan seperti ini berlanjut hingga lima kali atau setara dengan nilai pengenceran  $10^{-5}$ . Hasil dari pengenceran  $10^{-3}$  hingga  $10^{-5}$  diambil sebanyak 0,1 ml dengan mikropipet dan diinokulasikan pada media agar kaya nutrisi dengan metode *spread plate* pada cawan petri. Media agar kemudian diinkubasi dengan kondisi terbalik pada 30°C selama kurang lebih tiga hari.

#### 2. Seleksi bakteri

Pada tahap ini isolasi hasil inkubasi akan diseleksi. Cara menyeleksi mikroorganisme tersebut adalah dengan memilih koloni yang berbeda secara fisik. Kemudian menumbuhkannya kembali pada media agar SBS dengan tambahan oli pada permukaannya sebanyak 0.1 ml. Oli yang ditambahkan diratakan dengan menggunakan batang L. Cawan petri yang telah berisi oli dan koloni terpilih kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama kurang lebih tiga hari.

#### 3. Pemurnian bakteri

Setelah melalui proses seleksi, mikroorganisme kemudian diisolasi kembali pada media yang sama yaitu agar SBS dengan tambahan oli. Metode isolasi dan penumbuhan yang dipergunakan menyerupai metode pada saat seleksi. Hasil pertumbuhan diamati untuk memperhatikan mikroorganisme yang tumbuh telah benar-benar sejenis dari bentuk fisik yang tampak dari cawan petri dan pada mikroskop.

## Pertumbuhan Bakteri

Pada tahap ini, bakteri akan ditumbuhkan pada erlenmeyer 250 ml yang telah berisi media SBS cair sebanyak 100 ml dan tambahan minyak. Jumlah bakteri yang dimasukkan kedalam media sebanyak satu ose. Untuk tiap isolat bakteri yang terpilih akan diuji untuk mendegradasi berbagai jenis minyak dengan variasi konsentrasi 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%, dan 0,6%. Selama degradasi akan dilakukan perhitungan pertumbuhan bakteri dengan metode tidak langsung melalui pengukuran spektrofotometer. Perhitungan pertumbuhan bakteri diamati tiap 1 hari sekali selama 7 hari.

## Metode Analisa

Metode untuk menganalisa kemampuan mikroorganismenya dalam mendegradasi minyak dilakukan dengan cara

1. Membuat kinetika pertumbuhan bakteri berdasarkan kemampuannya mendegradasi berbagai jenis minyak bumi yang diberikan.

Pembuatan kinetika pertumbuhan bakteri diawali dengan pembuatan kurva pertumbuhan bakteri. Kurva pertumbuhan bakteri diperoleh melalui pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer. Sebanyak 3 ml sampel bakteri yang telah dibiakkan dalam media cair SBS diambil dan dimasukkan ke dalam kuvet kemudian diukur pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm. Pengukuran pertumbuhan bakteri dilakukan tiap 1 hari selama 7 hari. Kurva yang terbentuk dari hasil pengukuran kemudian disesuaikan dengan kurva standarnya.

Kurva standar dibentuk dengan menumbuhkan bakteri pada media cair SBS sebanyak 500 ml dengan tambahan oli bekas sebanyak 0,3% (v/v) dan dikocok selama 7 hari. Hasil dari pengocokan diambil dan dilakukan pengenceran dengan variasi pengenceran 0%, 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% dalam tabung 10 ml. Hasil pengenceran diukur dalam spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm dan dilakukan pengukuran VSS (*Volatile Suspended Solid*) untuk mengetahui banyaknya bakteri yang tumbuh tiap satuan mg/L.

Kinetika pertumbuhan bakteri diperoleh melalui pendekatan monod dengan mencari nilai  $\mu_{maks}$  dan  $K_s$  dengan cara melinierisasikan persamaan monod pada **Persamaan (1)** menjadi persamaan Lineweaver-Burk seperti pada **Persamaan (2)**

$$\mu = \frac{\mu_{maks} S}{K_s + S} \quad (1)$$

$$\frac{1}{\mu} = \frac{1}{\mu_{maks}} + \frac{1}{S} \frac{K_s}{\mu_{maks}} \quad (2)$$

2. Membuat kurva pH sebagai tanda adanya reaksi yang terjadi pada bioreaktor.

Pembuatan kurva pH dilakukan dengan pengukuran pH media dengan menggunakan pH meter.

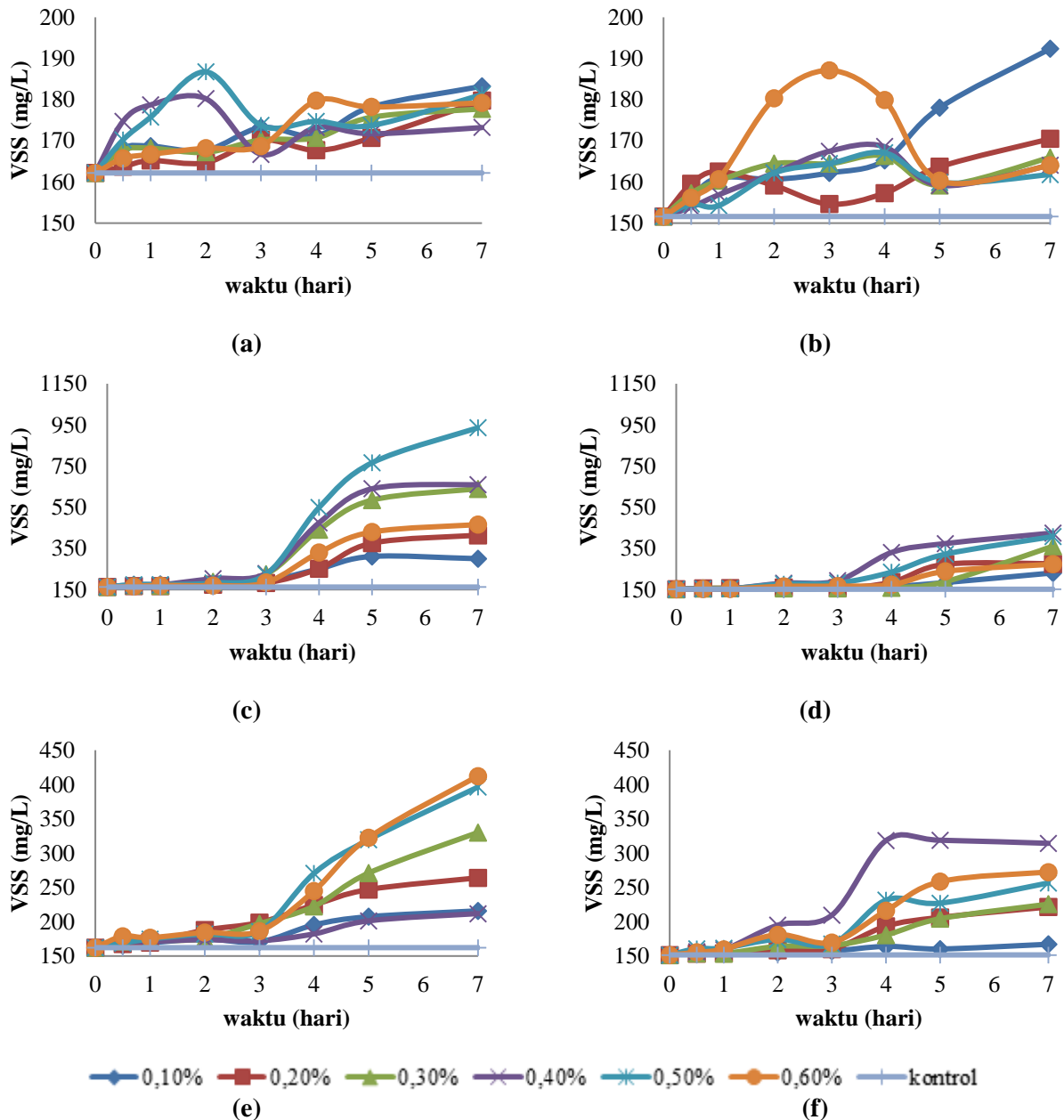
3. Analisa Total Petroleum Hidrokarbon (TPH)

Pengukuran TPH dilakukan pada awal percobaan (hari ke-0) dan pada akhir percobaan (hari ke-7). Pengukuran TPH dilakukan dengan menggunakan metode gravimetri dengan prosedur ekstraksi Soxhlet untuk mengekstrak minyak dari larutan. Hasil pengukuran TPH terbaik kemudian dianalisa dengan menggunakan GC/MS untuk mengetahui senyawa apa saja yang hilang dan konsentrasinya selama proses pertumbuhan terjadi.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian diawali dengan pembuatan isolat bakteri dari kultur campuran tanah yang tercemar. Hasil pembuatan isolat dari kultur campuran adalah terjadinya pertumbuhan hanya pada hasil pengenceran  $10^{-3}$  yang tumbuh pada agar kaya nutrisi. Koloni yang tumbuh pada media agar kaya nutrisi kemudian diseleksi dengan cara memperhatikan ciri-ciri fisik yang ditampakkan. Seleksi dilakukan secara acak dari koloni yang telah tumbuh. Koloni yang telah diambil dinokulasikan kembali pada media agar SBS yang telah diolesi oli sebanyak 0,1 ml sebagai sumber karbon. Media diinkubasi pada suhu 30°C selama tiga hari. Dari hasil seleksi diperoleh dua buah isolat yang tumbuh yaitu isolat A-1 dan isolat A-2. Isolat yang telah

diperoleh ini kemudian diuji kemampuannya untuk mendegradasi minyak dalam media cair SBS. Isolat kemudian diinokulasikan ke media sebanyak satu ose dan diaduk dengan *rotary shaker* selama 7 hari. Pengamatan pertumbuhan dilakukan tiap 1 hari sekali dengan mengambil sampel sebanyak 3 ml dan dimasukkan kedalam kuvet dan diukur densitas optiknya pada spektrofotometer. Turbiditas yang terukur merupakan tanda adanya pertumbuhan dari bakteri. Nilai dari turbiditas yang diperoleh kemudian dikonversikan ke kurva standar untuk memperoleh nilai biomassa dari bakteri sehingga diperoleh hasil dari kurva pertumbuhan bakteri seperti yang dapat dilihat pada **Gambar 2**.



**Gambar 2.** Kurva pertumbuhan isolat A-1 pada minyak tanah (a) solar (c) dan oli (e) dan isolat A-2 pada minyak tanah (b) solar (d) dan oli (f)

Selanjutnya, hasil dari pertumbuhan ini akan dipergunakan untuk mencari nilai laju pertumbuhan spesifik ( $\mu$ ) seperti yang terlihat pada **Tabel 1**.

**Tabel 1.** Laju pertumbuhan spesifik bakteri

Konsentrasi minyak tanah (%)	$\mu$ Isolat A-1 (/hari)	$\mu$ Isolat A-2 (/hari)
0,1	0,023	0,036
0,2	0,023	0,040
0,3	0,029	0,038
0,4	0,097	0,035
0,5	0,071	0,050
0,6	0,063	0,115
<b>Konsentrasi solar (%)</b>		
0,1	0,271	0,114
0,2	0,362	0,386
0,3	0,677	0,325
0,4	0,731	0,536
0,5	0,897	0,286
0,6	0,583	0,316
<b>Konsentrasi oli (%)</b>		
0,1	0,097	0,042
0,2	0,108	0,126
0,3	0,159	0,124
0,4	0,099	0,418
0,5	0,376	0,324
0,6	0,275	0,242

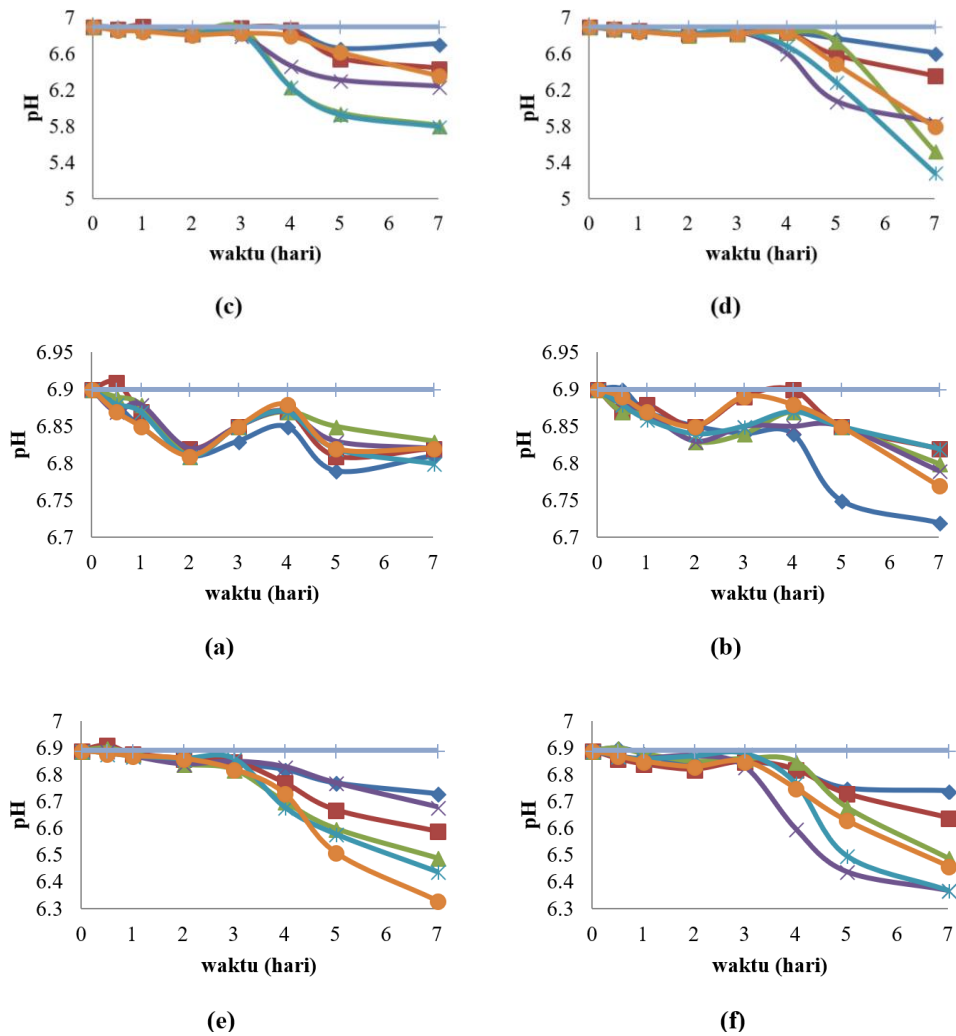
Untuk menentukan nilai  $\mu$ , pertumbuhan bakteri diamati dengan cara ditumbuhkan pada konsentrasi substrat yang berbeda-beda. Linearisasi kurva pertumbuhan bakteri pada fase eksponensial menghasilkan garis regresi dengan slope yang merupakan laju pertumbuhan spesifiknya (Devianto, 2005).

Selama pertumbuhan bakteri akan memakan minyak yang diberikan dan sebagai hasil metabolismenya bakteri akan melepaskan asam ke lingkungan sehingga akan terjadi penurunan pH seperti yang dapat dilihat pada **Gambar 3**. Menurut Middelbeek *et al.* (1992) pada fase eksponensial mikroba membelah dengan cepat dan konstan, pada fase ini kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh media tempat tumbuhnya seperti pH dan kandungan nutrisi, juga kondisi lingkungan termasuk suhu dan kelembaban udara.

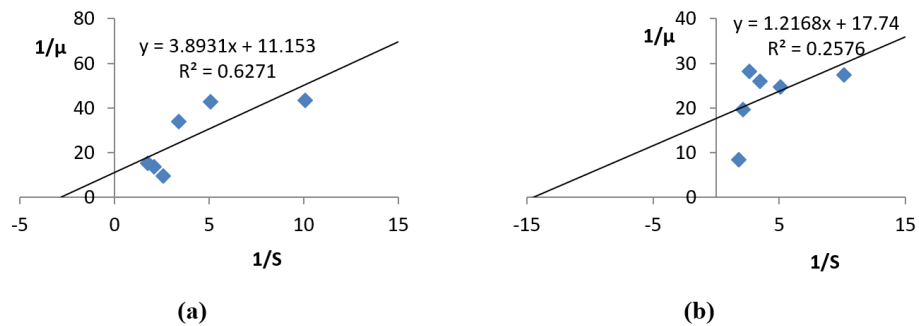
Menurut Gaudy dan Gaudy (1981), organisme yang tumbuh dalam lingkungan aerobik juga mampu memproduksi asam. Oksidasi dari komponen organik dapat menghasilkan karbondioksida yang cukup untuk menurunkan pH secara signifikan jika lingkungan tidak memiliki cukup buffer untuk menahannya.

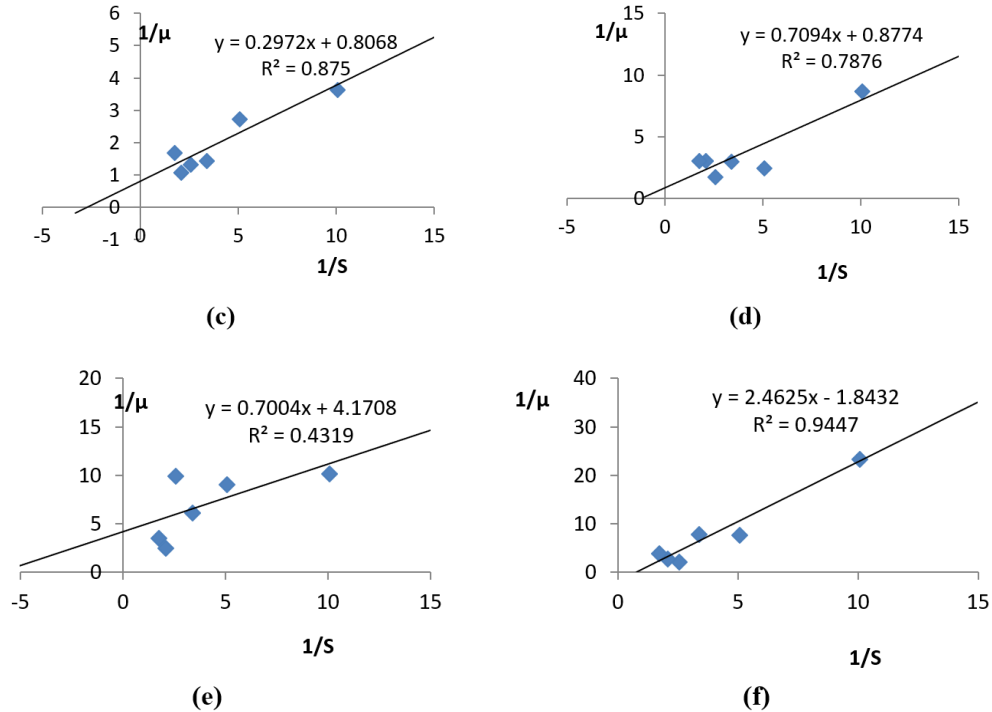
### **Kinetika Bakteri Pendegradasi Minyak**

Setelah diperoleh hasil perhitungan dari laju pertumbuhan spesifik masing-masing isolat dari berbagai macam substrat dengan berbagai macam konsentrasi kemudian dibentuklah sebuah kurva perbandingan antara laju pertumbuhan spesifik bakteri ( $\mu$ ) terhadap konsentrasi substrat (S) untuk memperoleh laju pertumbuhan maksimum ( $\mu_{maks}$ ) dan konstanta kejenuhan monod ( $K_s$ ) yang merupakan parameter kinetika yang spesifik untuk setiap mikroorganisme. Kinetika pertumbuhan bakteri diperoleh melalui pendekatan monod dengan mencari nilai  $\mu_{maks}$  dan  $K_s$  dengan cara melinierisasikan persamaan monod pada menjadi persamaan Lineweaver-Burk. Kurva Lineweaver-Burk oleh bakteri isolat A-1 dan isolat A-2 dapat dilihat pada **Gambar 4**.



**Gambar 3.** Kurva pH isolat A-1 pada minyak tanah (a), solar (c), dan oli (e) dan isolat A-2 pada minyak tanah (b), solar (d), dan oli (f)





**Gambar 4.** Kurva Lineweaver-Burk isolat A-1 pada minyak tanah (a) solar (c) dan oli (e) dan isolat A-2 pada minyak tanah (b) solar (d) dan oli (f)

Hasil dari perhitungan laju pertumbuhan spesifik maksimum ( $\mu_{maks}$ ) dan konstanta kejenuhan monod (Ks) bakteri isolat A-1 dan isolat A-2 pada berbagai macam substrat minyak dapat dilihat pada **Tabel 2** berikut.

**Tabel 2.** Hasil perhitungan Ks dan  $\mu_{maks}$  bakteri pada minyak

No	Bakteri	Substrat	Ks (g/L)	$\mu_{maks}$ (/hari)
1.	isolat A-1	Minyak tanah	4,26	0,090
		Solar	3,68	1,240
		Oli	2,06	0,240
2.	isolat A-2	Minyak tanah	0,69	0,056
		Solar	8,00	1,127
		Oli	13,36	0,543

### Analisa Total Petroleum Hidrokarbon

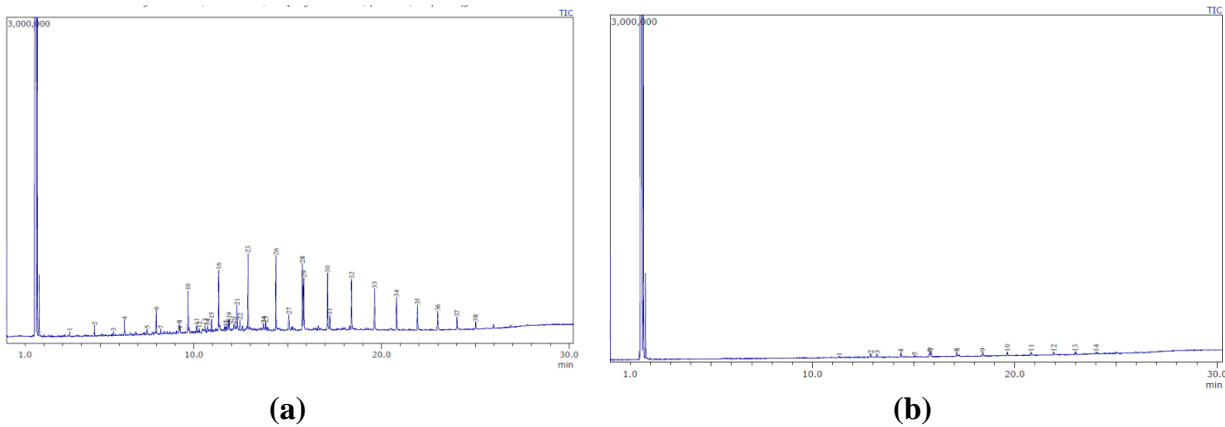
Hasil pertumbuhan bakteri akan berhubungan langsung dengan seberapa banyak minyak yang berhasil didegradasi atau dimakan oleh bakteri. Hasil pencernaan ini akan berdampak langsung pada menurunnya TPH yang diberikan sehingga akan diperoleh nilai dari penyisihan TPH. Hasil pengukuran dari penyisihan minyak dilakukan pada awal dan akhir percobaan untuk mengetahui seberapa besar minyak yang didegradasi oleh bakteri. Hasil dari penyisihan tersebut dapat dilihat pada **Tabel 3** dibawah. Dari hasil pengukuran diketahui bahwa minyak jenis solar yang terbaik didegradasi oleh bakteri dan menghasilkan pengukuran nilai TPH yang lebih baik bila dibandingkan dengan oli dan minyak tanah. Berdasarkan hasil tersebut maka dipilihlah TPH terbaik untuk diuji kandungan yang diperoleh dari hasil proses degradasi oleh bakteri.



**Tabel 3.** Penyisihan TPH oleh bakteri

Konsentrasi minyak (%)	TPH Isolat A-1 (%)	TPH Isolat A-2 (%)
<b>Minyak Tanah</b>		
0,1	72,57	69,10
0,2	71,28	62,95
0,3	63,89	70,27
0,4	66,18	71,03
0,5	67,11	71,86
0,6	66,19	70,72
<b>Solar</b>		
0,1	69,20	65,61
0,2	68,20	66,97
0,3	70,06	68,42
0,4	71,06	68,95
0,5	71,40	69,45
0,6	67,38	67,48
<b>Oli</b>		
0,1	66,90	57,18
0,2	56,63	50,00
0,3	60,37	64,90
0,4	62,85	69,44
0,5	70,33	69,65
0,6	69,01	68,78

Dari semua hasil yang diperoleh saya memilih untuk melakukan uji GC/MS pada solar dengan konsentrasi 0,5% hasil degradasi bakteri isolat A-1 karena dari segi pertumbuhan dan hasil pengukuran TPH cenderung yang terbaik diantara yang lainnya. Kurva hasil pengukuran GC/MS dapat dilihat pada **Gambar 5**.



**Gambar 5.** Kurva hasil pengukuran GCMS solar pada awal percobaan (a) akhir percobaan (b)

Kurva diatas menunjukkan hasil pengukuran pada awal sebelum dilakukannya uji degradasi oleh bakteri. Pada masing-masing puncak terdapat nomor yang menyatakan jenis senyawa yang terkandung dari solar yang terukur. Kandungan senyawa tersebut dapat dilihat pada **Tabel 4** dan **Tabel 5**.

Hasil dari GCMS yang dilakukan pada akhir percobaan menunjukkan puncak kurva yang dihasilkan menurun ketinggiannya dan jumlah dari puncaknya pun berkurang. Hal ini menunjukkan bahwa minyak solar telah didegradasi oleh bakteri. Berdasarkan hasil uji GCMS pada awal dan akhir percobaan dapat dilihat bahwa ada beberapa senyawa yang hilang dan ada juga yang berkurang seperti senyawa nonane, decane, oxirane, naftalene, dodecane, undecane, tetradecane, eicosane, hexadecane dan oktadecane.

**Tabel 4.** Senyawa-senyawa hasil GCMS awal solar

Peak#	Name	Peak#	Name
1	Nonane	20	Cyclohexane, octyl-
2	Decane (CAS) n-Decane	21	Hexadecane
3	Oxirane, tetradecyl-	22	1H-indene, octahydro-2,2,4,4,7,7-hex
4	Undecane (CAS) n-Undecane	23	Hexadecane
5	Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-	24	Dodecane, 2-cyclohexyl-
6	Dodecane	25	Pentadecane, 2-methyl-
7	Undecane, 2,6-dimethyl-	26	Hexadecane
8	Sulfurous acid, 2-ethylexyl pentyl est	27	Pentadeane, 2,6,10,14-tetramethyl-
9	Naphtalene, 1,2,3,4-tetrahydro-6	28	Heptadecane
10	Hexadecane (CAAS) n-Hexadecane	29	Pentadeane, 2,6,10,14-tetramethyl-
11	Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-2,6-	30	Octadecane (CAS) n-Octadecane
12	Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-1,5-	31	Hexadecane, 2,6,10,14-tetramethyl-
13	Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-2,7-	32	Heneicosane
14	Tetradecane, 2,6,10-trimethyl-	33	Eicosane
15	Hexadecane, 2,6,10,14-tetramethyl-	34	Heneicosane
16	Tetradecane	35	Eicosane
17	Nonane, 5-(2-methylprpyl)-	36	Eicosane
18	Naphthalene, decahydro-1,6-dimethyl	37	Eicosane
19	1H-indene, octahydro-2,2,4,4,7,7-hex	38	Eicosane

**Tabel 5.** Senyawa-senyawa hasil GCMS solar setelah percobaan

Peak#	Name	Peak#	Name
1	Tetradecane	8	Nonadecane (CAS) n-Nonadecane
2	Pentadecane (CAS) n-Pentadecane	9	Heneicosane
3	Butylated Hydroxytoluene	10	Heneicosane
4	Heptadecane	11	Heneicosane
5	Pentadecane, 2,6,10-trimethyl-	12	Heneicosane
6	Heptadecane	13	Heneicosane
7	Pentadecane, 2,6,10,14-tetramethyl	14	Heneicosane

**Identifikasi Bakteri Pendegradasi Minyak**

Isolat yang diperoleh dari hasil pertumbuhan dalam cawan petri kemudian diisolasikan kedalam agar miring dan diinkubasi selama 24 - 48 jam. Bakteri yang tumbuh kemudian diidentifikasi menggunakan uji biokimia. Identifikasi bakteri dilakukan pada Laboratorium Mikrobiologi di Laboratorium Kesehatan. Hasil uji laboratorium dapat dilihat pada **Tabel 6** berikut

**Tabel 6.** Hasil uji fisik dan biokimia bakteri

Uji yang Dilakukan	Isolat A-1	Isolat A-2
Gram	Gram positif	Gram positif
Morfologi sel	Batang	Batang
Spora	Ada spora	Ada spora
Katalase	+	+
Oksidase	-	-
Vogus Proskauer	-	-
Simon Sitrat	-	-
Arabinosa	-	+
Glukosa	-	-
Manitol	+	+
Xylosa	-	-
Laktosa	-	-

Uji yang Dilakukan	Isolat A-1	Isolat A-2
Sukrosa	+	-
Arginin	-	-
Lysin	-	-
Urease	-	-
H <sub>2</sub> S	-	-
Indol	-	-
Motilitas	+	+
Metil Red	-	-
Gelatin	-	-
Prediksi Jenis	<i>Bacillus simplex</i>	<i>Bacillus firmus</i>

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan percobaan dapat diambil kesimpulan bahwa isolat bakteri yang berasal dari tanah yang tercemar oleh oli di sebuah bengkel di Kota Bandung diperoleh dua jenis bakteri yang mampu mendegradasi minyak yaitu *Bacillus simplex* dan *Bacillus firmus*. Dari kedua bakteri yang diperoleh keduanya mampu mendegradasi minyak yang diberikan dengan baik akan tetapi lebih unggul untuk mendegradasi minyak jenis solar. Diantara kedua isolat tersebut yang paling baik dalam mendegradasi solar adalah *Bacillus simplex* dengan hasil kinetika pertumbuhan  $K_s = 3,86 \text{ g/L}$  dan  $\mu_{maks} = 1,240/\text{hari}$ . Pertumbuhan bakteri yang dihasilkan ternyata akan berpengaruh terhadap tingkat keasaman lingkungan. Kondisi pH lingkungan yang awalnya netral yaitu 6,9 berubah asam menjadi 6 – 5 karena aktivitas pertumbuhan yang ternyata menghasilkan asam dan dilepaskan ke lingkungan. Perbedaan konsentrasi substrat yang diberikan ternyata memiliki pengaruh pada pertumbuhan. Semakin banyak konsentrasi substrat yang diberikan ternyata tidak menjadi jaminan pertumbuhannya akan menjadi lebih baik daripada konsentrasi yang sedikit. Hal ini terlihat dari hasil penelitian bahwa bakteri *Bacillus simplex* cenderung tumbuh maksimum pada konsentrasi minyak 0,5% sedangkan *Bacillus firmus* cenderung baik pertumbuhannya pada konsentrasi minyak 0,4%. Hasil dari pengukuran TPH menunjukkan bahwa bakteri cenderung mampu mendegradasi solar dengan baik. Selain tampak dari hasil penurunan TPH yang dihasilkan yaitu sebesar 71,40% juga dari hasil pengukuran GCMS. Hasil pengukuran GCMS menunjukkan bahwa ada beberapa senyawa yang hilang seperti selama percobaan yaitu nonane, decane, oxirane, naftalene, dodecane, undecane, tetradecane, eicosane, hexadecane dan oktadecane.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bao, M. T., L. Wang, P. Sun, L. Cao, Zou, Y. Li. 2012. *Biodegradation of crude oil using an efficient microbial consortium in a simulated marine environment*. Mar. Pollut. Bull. 64, 1177-1185.
- Duan, L., R. Naidu, P. Thavamani, J. Meaklim, M. Megharaj. 2013. *Managing Longterm Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Contaminated Soil : A Risk-Based Approach*. Environ. Sci. Pollut. Res.
- Ferradji, F.Z., S. Mnif, A. Badis, S. Rebbani, D. Fodil, K. Eddouaouda, S.S. Ferradji. 2014. *Naphtalene and Crude Oil Degradation by Biosurfactant Producing Streptomyces spp. Isolated From Mitidja Palin Soil (North of Algeria)*. Int. Biodeterior. Biodegrad. 86, 300-308.
- Gaudy, A.F. Jr dan E.T. Gaudy. 1981. *Microbiology for Environmental Scientists and Engineers*. McGraw Hill Book Co. New York.
- Kepmen LH no 128. 2003. Tata Cara dan Persyaratan Teknis Pengolahan Limbah Minyak Bumi dan Tanah Terkontaminasi Oleh Minyak Bumi Secara Biologis.
- Mandri, T. dan Lin J. 2007. *Isolation and Characterization of Engine Oil Degrading Indigenous Microorganisms in Kwazulu-Natal, South Africa*. African Journal of Biotechnology Vol. 6(1), pp. 023-027
- Middlebeek, E.J., R.O. Jenkins dan J.S. Drijver-de Haas. 1992. *Growth in Batch Culture. In Vitro Cultivation of Micro-organisms*. Biotechnology by Open Learning.