

MARINE MICROBIOLOGY
2. HYDROCARBON BIODEGRADATION

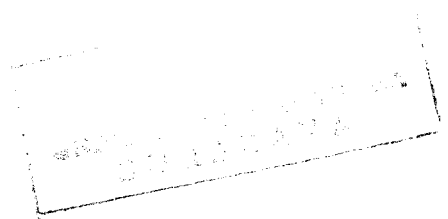
IR - Perpustakaan Universitas Airlangga



LAPORAN PENELITIAN
DIP UNIVERSITAS AIRLANGGA
TAHUN ANGGARAN 1999/2000

KRC
KRC
578.77
NIM
P.

PENCARIAN STRAIN BAKTERI HIDROKARBONOKLASTIK DI KAWASAN PERAIRAN PANTAI SURABAYA



Peneliti :

Dr. NI'MATUZHROH



002801141

LEMBAGA PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

Dibiayai oleh : DIP Universitas Airlangga 1999/2000
Nomor SK. Rektor 8402/J03/PP/1999
Nomor Urut : 86

300028013141

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS AIRLANGGA

Februari, 2000



DEPARTEMEN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
LEMBAGA PENELITIAN

- | | | |
|--------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------|
| 1. Puslit Pembangunan Regional | 5. Puslit Pengembangan Gizi(5995720) | 9. Puslit Kependudukan dan |
| 2. Puslit Obat Tradisional | 6. Puslit/Studi Wanita (5995722) | Pembangunan (5995719) |
| 3. Puslit Pengembangan Hukum | 7. Puslit Olahraga | 10. Puslit / Kesehatan Repro- |
| 4. Puslit Lingkungan Hidup (5995718) | 8. Puslit Bioenergi | duksi |

Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya 60115 — Telp. (031) 5995246, 5995248, 5995247 Fax. (031) 5995246

E-mail: lpunair@rad.net.id — http://www.geocities.com/Athens/Olympus/6223

**IDENTITAS DAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN**

1. a. Judul Penelitian : Pencarian Strain Bakteri Hidrokarbonoklastik Di Kawasan Perairan Pantai Surabaya
- b. Macam Penelitian : Fundamental, Terapan, Pengembangan, Institusional
- c. Katagori Penelitian : I II III
2. Kepala Proyek Penelitian
- a. Nama Lengkap dan Gelar : Dr. Ni'matuzahroh
- b. Jenis Kelamin : Perempuan
- c. Pangkat/Golongan dan NIP: Penata Muda / IIIa / 132 011 697
- d. Jabatan Sekarang : Staf Pengajar
- e. Fakultas/Puslit/Jurusan : MIPA / Biologi
- f. Univ./Inst. /Akademi : Universitas Airlangga
- g. Bidang Ilmu Yang Diteliti : Mikrobiologi Lingkungan
3. Jumlah Tim Peneliti : 1 (Satu) orang
4. Lokasi Penelitian : Surabaya
5. Kerjasama dengan Instansi Lain
- a. Nama Instansi : -
- b. A l a m a t : -
6. Jangka Waktu Penelitian : 5 (lima) bulan
7. Biaya Yang Diperlukan : 3.750.000,00
8. Seminar Hasil Penelitian
- a. Dilaksanakan Tanggal : 15 Maret 2000
- b. Hasil Penelitian : Baik Sekali Baik Sedang Kurang

Surabaya, 15 Maret 2000

Mengetahui/Mengesahkan :
a.n. Rektor
Ketua Lembaga Penelitian,
Prof. Dr. Ngor Cholies Zaini f
NIP. 30 365 372

RINGKASAN

PENCARIAN STRAIN BAKTERI HIDROKARBONOKLASTIK DI KAWASAN PERAIRAN PANTAI SURABAYA (Ni'matuzahroh, 2000, 41halaman)

Penelitian ini dirancang untuk menjawab pertanyaan (1) Seberapa besar tingkat diversitas bakteri hidrokarbonoklastik di kawasan perairan pantai Surabaya? (2) Bagaimanakah karakteristik dari bakteri hidrokarbonoklastik yang berhasil diisolasi dari kawasan perairan pantai Surabaya ?. Bakteri hidrokarbonoklastik merupakan bakteri yang mampu menggunakan hidrokarbon sebagai substrat pertumbuhannya, keberadaannya di perairan bergantung pada substrat, dan faktor lingkungannya. Perairan pantai Surabaya merupakan pusat berkumpulnya berbagai buangan limbah baik yang berasal dari aktivitas perindustrian maupun transportasi laut yang berupa limbah hidrokarbon dan non hidrokarbon. Pada perairan ini diduga memiliki keanekaragaman bakteri yang tinggi, termasuk jenis-jenis bakteri hidrokarbonoklastik yang mempunyai kemampuan tinggi dalam mendegradasi limbah hidrokarbon.

Tujuan penelitian ini adalah untuk (1) mengetahui diversitas bakteri hidrokarbonoklastik di kawasan perairan pantai Surabaya, (2) mengetahui karakteristik dari jenis-jenis bakteri hidrokarbonoklastik hasil isolasi, dan (3) mengoleksi berbagai strain isolat bakteri hidrokarbonoklastik yang didapatkan dari perairan pantai Surabaya.

Pengambilan sampel sedimen dan air dilakukan di beberapa tempat di kawasan perairan pantai Surabaya dan sekitarnya yang tercemar minyak (Pelabuhan Tanjung Perak dan Pelabuhan Gresik) serta perairan sungai yang telah diketahui memberikan sumbangan besar terhadap pencemaran di perairan pantai Surabaya (yaitu sungai Kali Surabaya dan kanal Kali Wonokromo). Sampel sedimen dari berbagai lokasi penelitian dihomogenkan dengan menggunakan larutan fisiologis. Setelah diendapkan, suspensi bakteri pada supernatan ditumbuhkan pada media selektif hidrokarbon (minyak pelumas) yang berupa media padat dan media cair. Sedangkan sampel air ditumbuhkan pada media selektif secara langsung. Setelah 3 minggu masa inkubasi baik pada media padat dan media cair, dilakukan isolasi bakteri hidrokarbonoklastik dengan jalan menumbuhkan bakteri pada media Nutrien Agar. Strain bakteri hasil isolasi dimurnikan dan kemudian

diidentifikasi dengan melakukan uji karakterisasi yang meliputi uji morfologis, fisiologis dan nutritif untuk menggolongkannya dalam genus-genus bakteri tertentu. Pengambilan sampel (air dan sedimen) dan isolasi bakteri dilakukan sebanyak dua kali. Strain-strain bakteri yang didapatkan pada berbagai stasiun penelitian dikoleksi di laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi FMIPA UNAIR.

Hasil isolasi dan identifikasi bakteri hidrokarbonoklastik dari berbagai lokasi penelitian didapati 24 strain bakteri yang meliputi 8 genus yaitu *Pseudomonas* (9 jenis), *Alcaligenes* (3 jenis), *Acinetobacter* (3 jenis), *Arthrobacter* (2 jenis), *Moraxella* (2 jenis), *Pediococcus* (1 jenis), *Flavobacterium* sp (2 jenis), *Micrococcus* sp (2 jenis). Genera bakteri yang didapatkan, diduga merupakan bakteri yang sangat potensial dalam mendegradasi berbagai komponen hidrokarbon (alifatik, aromatik dan poliaromatik) dan berpotensi besar untuk dikembangkan dalam upaya bioremediasi lingkungan termasuk kemampuannya dalam menghasilkan biosurfaktan.

Berdasarkan hasil yang dicapai tersebut, disarankan adanya penelitian lanjutan, baik menyangkut kemampuan berbagai strain isolat bakteri dalam mendegradasi berbagai komponen hidrokarbon, maupun pengembangan potensi bakteri tersebut dalam upaya bioremediasi lingkungan.

(L.P. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Airlangga: No. Kontrat 805/J03.2/PG/1999.

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi ALLAH Subhanaallahu Wa Taa'la atas segala rahmat serta hidayah-Nya, sehingga penelitian ini dapat berjalan secara lancar. Penelitian ini dilakukan sebagai upaya awal penulis untuk mengungkap potensi sumberdaya hayati yang ada di perairan pantai Surabaya, yang selama ini cenderung diabaikan. Padahal, di dalamnya tersimpan potensi kekayaan alam yang siap dikembangkan untuk berbagai keperluan guna meningkatkan kesejahteraan dan taraf hidup umat manusia.

Bentuk-bentuk bakteri hidrokarbonoklastik di lingkungan alam, memainkan peranan penting dalam siklus materi dan aliran energi yang ada di perairan dan proses pemulihan akibat pencemaran lingkungan. Keberadaan bakteri hidrokarbonoklastik mempunyai peranan yang sangat penting dalam menetralsir lingkungan tercemar di perairan Surabaya dan berpotensi dalam upaya bioremediasi lingkungan akibat pencemaran hidrokarbon.

Penelitian ini merupakan tahap awal dari penelitian-peneiitian lebih lanjut tentang peran bakteri dalam mengatasi pencemaran hidrokarbon. Data –data yang didapatkan masih jauh dari kesempurnaan, oleh karenanya sangat diharapkan adanya kritik serta saran demi sempurnanya tulisan ini. Penulis berharap semoga khasanah pengetahuan yang terkandung dalam naskah tulisan ini berguna khususnya dalam pengembangan potensi sumberdaya yang ada di perairan tawar maupun laut. Demikian, atas segala perhatiannya disampaikan terima kasih.

Surabaya, Februari, 2000
Penyusun,

Ni'matuzahroh

DAFTAR ISI

LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN	i
RINGKASAN	ii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	ix

B A B :

I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Permasalahan	1
1.2. Rumusan Masalah	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Tinjauan Tentang Hidrokarbon di Perairan	4
2.2. Tinjauan Tentang Biodegradasi Hidrokarbon	7
2.3. Tinjauan Tentang Bakteri Hidrokarbonoklastik	9
III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	11
3.1. Tujuan Penelitian	11

3.2. 3.2. Manfaat Penelitian	11
IV. METODE PENELITIAN	12
4.1. Tempat dan Waktu Penelitian	12
4.2. Bahan dan Peralatan	13
4.3. Prosedur Pengambilan Data	15
4.4. Teknik Analisis Data	17
V. HASIL DAN PEMBAHASAN	18
5.1. Bakteri Hidrokarbonoklastik yang Berhasil Diisolasi	18
5.2. Distribusi Bakteri Hidrokarbonoklastik Hasil Isolasi	21
VI. KESIMPULAN DAN SARAN	25
6.1. Kesimpulan	25
6.2. Saran	25
DAFTAR PUSTAKA	27
LAMPIRAN	30

DAFTAR TABEL

No.	Judul Tabel	Halaman
1.	Daftar genera mikroorganisme hidrokarbonoklastik	12
2.	Karakteristik morfologis bakteri hidrokarbonoklastik dari kawasan perairan pantai Surabaya dan sekitarnya	23
3.	Karakteristik fisiologis dan nutritif bakteri hidrokarbonoklastik dari kawasan perairan Pantai Surabaya dan sekitarnya	24
4.	Distribusi strain bakteri hidrokarbonoklastik pada berbagai lokasi pengambilan sampel di perairan pantai Surabaya dan sekitarnya.....	26

DAFTAR GAMBAR

No.	Judul Gambar	Halaman
1.	Komponen hidrokarbon minyak bumi	6
2.	Sampel sedimen disampling menggunakan <i>Peterson grab</i> dari dasar perairan di kawasan pelabuhan Tanjung Perak Surabaya.....	27
3.	Kultur cair pertumbuhan bakteri yang didapatkan dari perairan pantai dan perairan sungai	28

DAFTAR LAMPIRAN

No.	Judul lampiran	Hal.
1.	Gambar kultur bakteri dalam medium selektif minyak pelumas	36
2.	Gambar isolat strain bakteri dari kawasan perairan pantai Surabaya dan sekitarnya	37
3.	Panduan karakteristik morfologis untuk identifikasi bakteri	38
4.	Gambar beberapa lokasi tempat pengambilan sampel	40
5.	Gambar peta lokasi sampling di kawasan perairan pantai Surabaya	41

BAB I

PENDAHULUAN



1.1. Latar Belakang Permasalahan

Perkembangan pembangunan yang pesat di Indonesia di antaranya dalam bidang industrialisasi dan transportasi laut, telah membawa konsekuensi berupa munculnya berbagai kasus pencemaran di lingkungan laut. Salah satu bahan pencemar potensial di lingkungan laut adalah senyawa hidrokarbon. Pencemaran yang diakibatkan oleh senyawa hidrokarbon (utamanya dari komponen minyak) terus mengalami peningkatan dan telah menimbulkan dampak yang berarti bagi kesehatan organisme yang ada di lingkungan laut (Atlas, 1981, Cerniglia, 1992). Berbagai upaya untuk mengatasi dampak pencemaran yang ada di lingkungan telah banyak dilakukan. Bioremediasi merupakan salah satu upaya untuk mengurangi bahan-bahan pencemar dengan bantuan organisme hidup. Biodegradasi hidrokarbon oleh mikroorganisme (utamanya dari kelompok bakteri dan jamur) diketahui sebagai mekanisme utama dalam proses eliminasi pencemaran hidrokarbon di lingkungan (Anonimus, 1985). Keberadaan mikroba yang mampu mendegradasi limbah pencemar tersebar luas di alam. Penelitian yang mengarah ke peran mikroba dalam upaya meningkatkan keberhasilan bioremediasi merupakan kajian yang masih terus-menerus dilakukan.

Bioremediasi lingkungan dapat dilakukan melalui berbagai cara, antara lain dengan menginokulasikan bakteri yang mampu mendegradasi senyawa pencemar, meningkatkan kemampuan biodegradasi bakteri endogen dengan perbaikan faktor-faktor yang menghambat pertumbuhannya (penambahan nutrisi) dan meningkatkan ketersediaan substrat bagi bakteri dengan penambahan surfaktan / biosurfaktan (Korda

et al., 1977). Dari berbagai penelitian diketahui bahwa bioremediasi ditentukan oleh kesesuaian dari berbagai cara di atas, ditambah dengan faktor lingkungan yang ada.

Kajian peran bakteri dalam biodegradasi dan bioremediasi telah berkembang pesat di berbagai wilayah di dunia. Indonesia sebagai negara tropik dipastikan mempunyai keanekaragaman bakteri yang tinggi dan mempunyai karakteristik yang mungkin berbeda dengan bakteri di tempat lain. Upaya mengungkap potensi mikroorganisme (bakteri) strain lokal dalam upaya bioremediasi lingkungan kurang banyak dikaji di Indonesia. Isolasi dan karakterisasi bakteri hidrokarbonoklastik endogen dari berbagai habitat sangat dibutuhkan sebagai langkah awal menemukan strain yang mempunyai potensi besar dalam biodegradasi hidrokarbon. Penemuan strain tersebut akan dipakai untuk penelitian lebih lanjut guna mengetahui kapasitas masing-masing strain dalam proses biodegradasi.

Kawasan perairan pantai Surabaya dan sekitarnya yang di dalamnya bermuara banyak sungai dan juga sebagai pusat berlabuhnya kapal-kapal (Pelabuhan Tanjung Perak dan Pelabuhan Gresik) merupakan tempat penampungan bermacam-macam buangan limbah hidrokarbon yang berasal dari limbah domestik, industri, dan transportasi (buangan minyak pelumas mesin kapal). Perairan pantai Surabaya merupakan salah satu contoh perairan yang menerima berbagai limbah yang perlu mendapat perhatian untuk dijaga agar tidak semakin rusak, mengingat di perairan ini tersimpan sumberdaya alam yang sangat melimpah. Isolasi bakteri hidrokarbonoklastik dari tempat-tempat tercemar (utamanya minyak) di perairan pantai Surabaya dan sekitarnya diharapkan bisa mengungkap keberadaan dan diversitas bakteri hidrokarbonoklastik endogen yang dapat dikembangkan sebagai upaya kajian dan aplikasi bioremediasi lingkungan.

1.2. Rumusan Masalah

Penelitian ini mengambil rumusan masalah sebagai berikut.

1. Seberapa besar tingkat diversitas bakteri hidrokarbonoklastik di kawasan perairan pantai Surabaya ?
2. Bagaimanakah karakteristik dari bakteri hidrokarbonoklastik yang berhasil diisolasi dari kawasan perairan pantai Surabaya ?

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Tentang Hidrokarbon di Perairan

Senyawa hidrokarbon yang ada di lingkungan perairan, merupakan campuran senyawa-senyawa hidrokarbon fosil yang dikenal dengan nama hidrokarbon petroleum atau minyak bumi dan hidrokarbon biogenik. Pengertian hidrokarbon petroleum menyangkut semua hidrokarbon dalam minyak mentah dan hasil produk pengolahannya (Calberg, 1980). Hidrokarbon minyak bumi yang ada di lingkungan laut disamping dari hasil proses geokimia di laut juga merupakan masukan dari luar yang bisa berasal dari jalur transportasi, buangan limbah industri dan domestik, serta tumpahan minyak akibat kecelakaan kapal (Anonimus, 1985). Hidrokarbon minyak bumi biasanya terdiri dari campuran hidrokarbon yang struktur dan komposisinya sangat kompleks. Sedangkan hidrokarbon biogenik berasal dari aktifitas biologi (bakteri, phytoplankton, zooplankton, alga makro, dan tumbuhan tinggi) dan pada umumnya mempunyai struktur dan komposisi yang lebih sederhana (Mulyono, 1991).

a) **Hidrokarbon minyak bumi** terdiri dari beberapa golongan senyawa. Golongan utama yang menyusun 50-90 % dari komponen minyak bumi adalah, hidrokarbon rantai lurus (seperti n-alkana, alkana bercabang, dan sikloalkana) dan hidrokarbon aromatik, yang mempunyai cincin benzene bervariasi dari 1 sampai 6 buah. Sedangkan golongan penyusun lainnya adalah senyawa non-hidrokarbon misalnya senyawa oksigen, senyawa belerang, senyawa nitrogen, dan senyawa metal-organik (Mulyadi, 1991).

n-alkana, merupakan senyawa hidrokarbon dengan rumus molekul C_nH_{2n+1} . Jumlah atom karbon berkisar dari 1 (methana) hingga 60 (n-heksakonthana). Jumlah n-alkana yang berantai karbon ganjil dan yang genap mempunyai perbandingan 1:1. N-alkana merupakan 10 – 50% penyusun minyak bumi.

Alkana bercabang, merupakan seri senyawa hidrokarbon alkana dengan struktur rantai bercabang dan terdapat di dalam minyak baik dalam seri isomerik maupun seri isoprenoid. Senyawa alkana bercabang ini antara lain tersusun dari pristan, phitan dan farnesan, serta ditemukan dalam minyak bumi dengan proporsi yang sama dengan n-alkana.

Sikloalkana, disebut juga dengan sebutan naphtena, terdiri dari senyawa-senyawa hidrokarbon rantai jenuh melingkar dengan atau tanpa substitusi. Pada umumnya sikloalkana tersubstitusi terdapat dalam jumlah lebih banyak dibanding senyawa-senyawa yang tanpa tersubstitusi. Di samping sikloalkana dengan struktur sederhana (siklopentana dan sikloheksana) terdapat pula derivat-derivat polisiklik. Sikloalkana ini menyusun sekitar 10 – 20% dari minyak bumi.

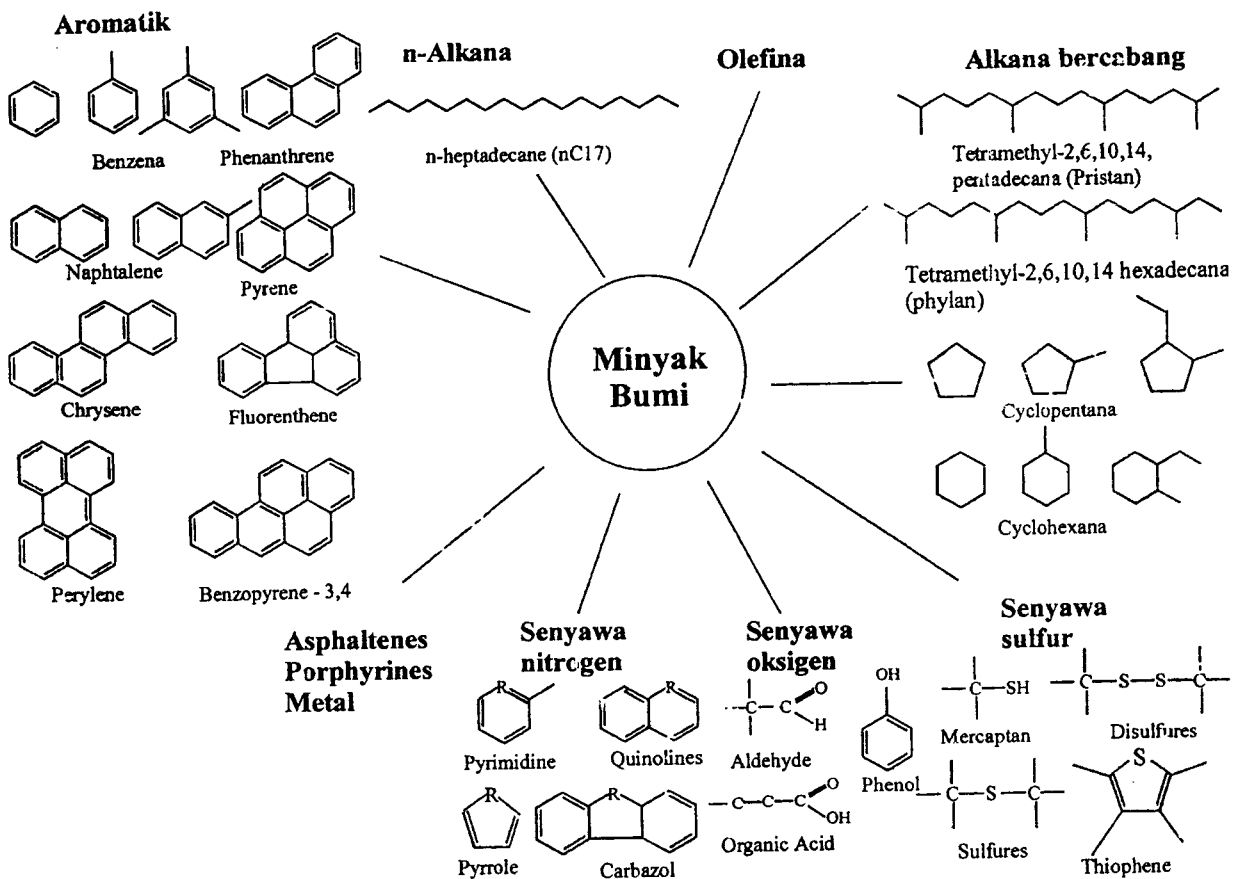
Hidrokarbon aromatik, terdiri dari campuran senyawa-senyawa hidrokarbon aromatik sangat kompleks, termasuk di antaranya adalah senyawa-senyawa aromatik dengan substitusi satu (mono), dua (di), dan banyak (poli) alkil. Termasuk dalam kelas ini adalah senyawa naphteno-aromatik yaitu senyawa hidrokarbon yang mempunyai struktur campuran sikloalkana dan aromatik. Pada umumnya jumlah hidrokarbon aromatik kurang melimpah dibandingkan dengan senyawa-senyawa alkana, menyusun hanya 10 – 30 % dari total hidrokarbon minyak bumi.

Senyawa nitrogen, menyusun sekitar 1 % dari minyak bumi dan pada umumnya terakumulasi di dalam fraksi berat (> 400 Carbon), terdiri dalam bentuk senyawa basa

(seperti senyawa-senyawa piridin dan quinolin), senyawa asam (seperti pyrrol, indol, karbazol dan benzokarbazol), dan senyawa nitrogen yang terikat dengan metal (misalnya dengan Vanadium dan dengan nikel porfirin).

Senyawa belerang, terdiri dari campuran senyawa-senyawa merkaptan (R-SH), sulfida (R-S-R) disulfida (R-S-S-R) dan senyawa-senyawa siklik (seperti n-pentil, markaptana, thiophen, dan benzethiophene).

Senyawa oksigen, kebanyakan merupakan senyawa-senyawa phenol dan asam-asam karboksilat, serta didapati pula dalam bentuk senyawa keton, ester dan anhidrid.



Gambar 1. Komponen hidrokarbon minyak

b) Hidrokarbon biogenik pada lingkungan laut terdiri juga dalam bentuk hidrokarbon alifatik dan aromatik dan ditemukan pada organisme darat dan laut. Menurut penelitian dalam suatu literatur kira-kira 0.01 % dari hidrokarbon yang ada di alam berasal dari organisme laut. Meskipun hidrokarbon biogenik terbentuk dari senyawa kimia yang mempunyai struktur kurang kompleks dibanding hidrokarbon minyak bumi, tetapi sangat susah membedakan antara dua tipe hidrokarbon tersebut.

n-alkana, dapat disintesis oleh organisme laut. Senyawa alkana dengan nomer atom ganjil ditemukan lebih dominan di laut (Blumer, 1969). Contohnya, pada phytoplankton, *n-alkana* C15, C17, C19 dan C21 terdapat dalam jumlah yang melimpah (Saliot, 1981). Sedangkan dalam rumput laut dan *Sargassum* terdapat *n-alkana* dengan C21 dan C29 mempunyai konsentrasi paling tinggi (Clark dan Blumer, 1967). Sebaliknya pada beberapa jenis bakteri mampu mensintesis *n-alkana* genap maupun ganjil dengan atom karbon antara C25 dan C32 (Davis, 1968).

Alkana bercabang, merupakan senyawa yang terkadang ditemukan paling banyak pada organisme laut. Senyawa yang paling banyak ditemukan adalah suatu isoprenoid yang disebut dengan pristan (2,6,10,14-tetrametilpentadekane). Pristan tersebar luas dalam jaring – jaring makanan dan terdapat sebagai komponen utama dari beberapa lemak kopepoda dan ikan (Clark et Brown, 1977; Saliot, 1981).

Alkena (olefina), merupakan senyawa yang tidak ditemukan pada minyak mentah, dan merupakan suatu fraksi penting dari hidrokarbon yang ditemukan dalam jumlah cukup banyak di dalam organisme laut. Mono-, di-, dan tri-olefina dalam C13 dan C20 sering terdapat dalam jumlah cukup banyak di dalam makroorganisme laut. Misalnya squalene banyak terdapat di dalam hati ikan hiu dan karotena didalam kerang

(Blumer *et al.*, 1970; Lee *et al.*, 1970; Lee et Loeblich, 1971; Youngblood et Blumer, 1973; Farrington et Meyer, 1975).

Sikloalkana dan sikloalkena, terdapat di lingkungan dalam bentuk senyawa – senyawa hidrokarbon yang mempunyai tiga cincin non aromatik. Sebagian besar dari senyawa ini merupakan senyawa terpenoid (Blumer, 1969), misalnya alkylsiklopropane telah ditemukan pada algae laut (Youngblood *et al.*, 1971).

Aromatik, keberadaan senyawa aromatik yang berasal dari biogene yang terdapat di laut masih merupakan hal yang kontroversial (Whittle, 1977). Hasil penelitian pendahuluan menyatakan bahwa organisme dapat mensintesis hidrokarbon aromatik. Misalnya benzo(a)pyrene dapat disintesis oleh rumput laut (Borneff *et al.*, 1968), oleh tumbuh-tumbuhan dan oleh bakteri (Knorr et Schenk, 1968; Mallet et Tissier, 1969). Namun, hasil penelitian yang terbaru menunjukkan bahwa hidrokarbon aromatik tersebut bukan hasil sintesa tetapi hasil akumulasi oleh organisme hidup (Hase et Hites, 1976).

Diantara dua jenis hidrokarbon yang ada di lingkungan perairan, hidrokarbon minyak menjadi kajian yang terus menerus menarik dilakukan sampai saat ini. Meningkatnya hidrokarbon minyak di laut berkaitan dengan semakin berkembangnya industrialisasi, yang menyebabkan peningkatan buangan limbah hidrokarbon petroleum baik dari industri maupun dari jalur transportasi. Pembuangan limbah tersebut akan menimbulkan dampak pencemaran bagi ekosistem laut dan berdampak bagi kesehatan organisme hidup. Kerusakan-kerusakan yang terjadi akibat limbah minyak yang diantaranya berupa kematian berbagai organisme laut dari organisme tingkat rendah sampai organisme tingkat tinggi, telah dilaporkan di dalam banyak penelitian. Toksisitas

yang ditimbulkannya terhadap organisme hidup juga telah banyak dipublikasikan (Ni'matuzahroh, 1998).

Secara alamiah, hidrokarbon yang ada di perairan akan mengalami serangkaian proses perubahan baik secara fisik maupun kimiawi. Banyaknya perubahan yang terjadi tidak saja akan dipengaruhi oleh jenis senyawa-senyawa hidrokarbonnya akan tetapi juga oleh kondisi-kondisi fisik, kimiawi dan biologi yang ada di lingkungan perairan. Proses-proses yang secara umum terjadi misalnya a) proses fisika, yang meliputi penyebaran, penguapan, pelarutan, dan pengendapan, b) proses kimiawi, yang berupa fotooksidasi oleh sinar matahari dan c) proses biologi, yang berupa biodegradasi oleh mikroorganisme perairan dan bioakumulasi yang dilakukan oleh organisme perairan (Farrington, 1978 dalam Mulyono, 1991; Ni'matuzahroh, 1998).

2.2. Tinjauan Tentang Biodegradasi Hidrokarbon

Biodegradasi merupakan proses penting dalam pemulihan kembali lingkungan perairan yang tercemar minyak bumi. Sebagian besar molekul-molekul minyak bumi dan produk turunannya, diketahui mampu didegradasi oleh mikroba hingga 70 – 90% (Bertrand *et al.*, 1983; 1993; Berwick, 1984; El-Nawawy *et al.*, 1992; Fedorak & Westlake, 1983; Hutchins, 1991; Pettigrew *et al.*, 1991; Rambeloarisoa *et al.*, 1984; Stewart *et al.*, 1993; Tyagi, 1993). Kecepatan degradasi dari masing-masing fraksi hidrokarbon minyak oleh mikroba sesuai dengan urutan sebagai berikut: n-alkana > isoalkana > aromatik dengan berat molekul rendah > poliaromatik > sikloalkana > asphalt (Berwick, 1984; Oudot, 1984; Leahy & Colwell, 1990).

Upaya untuk mengungkap biodegradasi hidrokarbon dengan menggunakan mikroorganisme telah dimulai oleh Miyoshi dan Sohngen sejak 100 tahun yang lalu (Cooney, 1984). Sejumlah penelitian yang dilakukan sejak pertengahan abad 20, telah menitik-beratkan antara lain pada: pencarian macam mikroorganisme yang digunakan, jenis-jenis senyawa hidrokarbon, jalur metabolik mikroorganisme dalam biodegradasi, dan kondisi-kondisi yang mempengaruhi biodegradasi. Penemuan faktor-faktor penghambat dari proses biodegradasi secara alamiah merupakan dasar dari kajian bioremediasi lingkungan yang tercemar.

Biodegradasi hidrokarbon oleh mikroorganisme dilakukan sebagian besar oleh golongan bakteri dan jamur. Selain itu golongan actinomicetes dan alga juga mempunyai potensi dalam biodegradasi senyawa hidrokarbon. Daftar mikroorganisme yang berpotensi dalam mendegradasi hidrokarbon tersaji dalam Tabel 1.

Kemampuan mikroorganisme dalam biodegradasi terutama bergantung pada habitatnya (Leahy & Colwell, 1990). Bakteri mempunyai peranan utama dalam

biodegradasi hidrokarbon dalam lingkungan air sedangkan jamur dominan pada habitat tertentu seperti zona pasang surut dan lingkungan mangrove (Floodgate, 1985) dan pada habitat-habitat di mana bakteri tidak mungkin tumbuh yang disebabkan oleh pH atau kandungan air yang rendah. Sedangkan golongan cyanobacter dan alga mempunyai kemampuan yang terbatas dibandingkan dengan bakteri dan jamur.

Biodegradasi hidrokarbon di perairan oleh mikroorganisme (bakteri) dipengaruhi oleh berbagai faktor, yang dapat digolongkan dalam tiga kategori, antara lain :

- 1) faktor yang berkaitan dengan senyawa hidrokarbon itu sendiri, meliputi struktur fisika dan kimia substrat hidrokarbon, dan konsentrasi substrat yang ada di lingkungan;
- 2) faktor lingkungan, yang berupa temperatur, konsentrasi oksigen, kandungan nutrisi (seperti nitrogen, phosphor, dan besi), tekanan, pH dan kadar garam; dan 3) faktor yang berkaitan dengan komunitas mikroorganisme yang ada, yaitu kelimpahan dan diversitas populasi strain mikroorganisme endogen, kemampuan masing-masing strain mikroorganisme dalam memetabolisme hidrokarbon, dan interaksi antara mikroorganisme dengan hidrokarbon sebagai substrat pertumbuhannya (Atlas, 1991; Bartha, 1986; Hoff, 1993; Leahy & Colwell, 1990; Bruchon, 1997).

2.3 Tinjauan Tentang Bakteri Hidrokarbonoklastik

Mikroorganisme yang mampu menggunakan hidrokarbon sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi yang dikenal dengan mikroorganisme hidrokarbonoklastik telah ditemukan baik pada lingkungan laut, estuari dan daratan, serta pada seluruh kondisi iklim dari tropik sampai ke kutub (Bartha & Atlas, 1987).

Tabel 1. Daftar genera mikroorganisme hidrokarbonoklastik. (Sumber: Ringkasan dari berbagai artikel dalam Bruchon (1997)).

Bakteri	Jamur dan Yeast	Jamur dan Yeast (lanjutan)
<i>Acetobacter</i>	<i>Acremonium</i>	<i>Saccharomyces</i>
<i>Achromobacter</i>	<i>Allescheria</i>	<i>Saccharomycopsis</i>
<i>Acentobacter</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Scolecobasidium</i>
<i>Actinomyces</i>	<i>Aureobasidium</i>	<i>Scopulariopsis</i>
<i>Aeromonas</i>	<i>Beauveria</i>	<i>Sporobolomyces</i>
<i>Alcaligenes</i>	<i>Botrytis</i>	<i>Syncephalastrum</i>
<i>Arthrobacter</i>	<i>Candida</i>	<i>Tetracosporium</i>
<i>Bacillus</i>	<i>Cephalosporium</i>	<i>Torulopsis</i>
<i>Beneckea</i>	<i>Chrysosporium</i>	<i>Trichoderma</i>
<i>Beijerinckia</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Trichosporon</i>
<i>Brevibacterium</i>	<i>Cochliobolus</i>	<i>Varicosporina</i>
<i>Chromoobacterium</i>	<i>Corollaspora</i>	<i>Verticillum</i>
<i>Corynebacterium</i>	<i>Cryptococcus</i>	
<i>Curtobacteria</i>	<i>Cunninghamella</i>	Alga
<i>Cytophaga</i>	<i>Cylindrocarpon</i>	<i>Amphora</i>
<i>Desulfovibrio</i>	<i>Debaryomyces</i>	<i>Chlorella</i>
<i>Desulfotomaculum</i>	<i>Dendryphiella</i>	<i>Chlamydomonas</i>
<i>Enterobacter</i>	<i>Didymosphaeria</i>	<i>Cylindrotheca</i>
<i>Erwinia</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Dunalie!la</i>
<i>Flavobacterium</i>	<i>Geotrichum</i>	<i>Navicula</i>
<i>Gluconobacter</i>	<i>Gliocladium</i>	<i>Nitzchia</i>
<i>Klebsiella</i>	<i>Gonythrichum</i>	<i>Petalonia</i>
<i>Lactobacillus</i>	<i>Graphium</i>	<i>Porphyridium</i>
<i>Leucothrix</i>	<i>Hansenula</i>	<i>Prototheca</i>
<i>Marinobacter</i>	<i>Helminthosporium</i>	<i>Synedra</i>
<i>Micrococcus</i>	<i>Humicola</i>	<i>Ulva</i>
<i>Moraxella</i>	<i>Lophotrichus</i>	
<i>Mycobacterium</i>	<i>Lulworthia</i>	Cyanobacteria
<i>Nocardia</i>	<i>Microthelia</i>	<i>Anabaena</i>
<i>Peptococcus</i>	<i>Monilia</i>	<i>Agmenellum</i>
<i>Peptidococcus</i>	<i>Monosporium</i>	<i>Aphanocapsa</i>
<i>Pseudomonas</i>	<i>Mortierella</i>	<i>Microcoleus</i>
<i>Rhodococcus</i>	<i>Mucor</i>	<i>Nostoc</i>
<i>Sarcina</i>	<i>Oidiodendrum</i>	<i>Oscillatoria</i>
<i>Serratia</i>	<i>Paecylomyces</i>	
<i>Sphaerotilus</i>	<i>Penicillium</i>	
<i>Spirillum</i>	<i>Phialophora</i>	
<i>Staphylococcus</i>	<i>Phoma</i>	
<i>Streptomyces</i>	<i>Pichia</i>	
<i>Vibrio</i>	<i>Rhizoctonia</i>	
<i>Xanthomonas</i>	<i>Rhodospirium</i>	
<i>Xanthomyces</i>	<i>Rhodotorulla</i>	

Proporsi mikroorganisme hidrokarbonoklastik terhadap komunitas mikroba secara keseluruhan menggambarkan nilai yang sangat bervariasi menurut tipe organismenya dan habitatnya (6% sampai 82% untuk jamur di tanah; 0,13% sampai 50% untuk bakteri di tanah; dan 0.003% sampai 100% untuk bakteri laut) (Leahy & Colwell, 1990).

Penelitian tentang potensi bakteri hidrokarbonoklastik telah banyak dilakukan. Jenis-jenis bakteri yang termasuk sebagai bakteri hidrokarbonoklastik disajikan pada Tabel 1. Di antara bakteri hidrokarbonoklastik di laut, genus yang mempunyai potensi dalam biodegradasi hidrokarbon adalah *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Nocardia*, *Arthrobacter*, *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Vibrio*, *Bacillus*, *Micrococcus* dan *Acinetobacter*, *Serratia*, *Sarcina*, *Bacterium* (Bartha & Atlas, 1987; Floodgate, 1995).

Bakteri hidrokarbonoklastik mengembangkan mekanisme yang khusus dalam mendegradasi hidrokarbon, hal tersebut dikarenakan hidrokarbon merupakan senyawa organik yang bersifat sukar larut dalam air (hidrofob). Penggunaan senyawa hidrofob dibatasi oleh masalah perpindahan substrat untuk mencapai membran sel bakteri (Miller & Bartha, 1989). Perpindahan tersebut dipermudah melalui kontak langsung bakteri dengan tetesan hidrokarbon yang berukuran lebih besar dari sel bakteri (Rosenberg, 1986; Husain, 1996). Amin *et al.* (1996) telah mengamati suatu korelasi positif antara fenomena perlekatan dan hidrofobisitas membran sel bakteri, dalam tahap awal biodegradasi. Aktifitas perlekatan tersebut terbukti dapat meningkatkan ketersediaan hidrokarbon untuk enzim-enzim seluler. Mekanisme lain yang dikembangkan oleh bakteri adalah dengan dihasilkannya biosurfaktan, suatu molekul yang bersifat aktif permukaan yang diproduksi oleh bakteri, mempunyai kemampuan untuk melarutkan

dan mengemulsikan hidrokarbon (Ni'matuzahroh, 1998). Tetesan – tetesan hidrokarbon akan berukuran lebih kecil dari sel bakteri dengan adanya biosurfaktan, yang pada akhirnya akan meningkatkan ketersediaan substrat (Zhang & Miller, 1992; Ducreux *et al.*, 1994; Zhang *et al.*, 1997). Penelitian yang menitik beratkan pada produksi biosurfaktan oleh bakteri hidrokarbonoklastik selama pertumbuhannya pada hidrokarbon telah dilakukan pada berbagai substrat, antara lain pada hidrokarbon alifatik dalam bentuk padat (Al-Mallah *et al.*, 1990; Husain, 1996; Fernandez-Linares *et al.*, 1996) dan hidrokarbon poliaromatik dan poliaromatik metil (Gilewicz *et al.*, 1997; Ni'matuzahroh, 1998). Molekul-molekul biosurfaktan tersebut bisa terletak pada permukaan sel membran bakteri atau diekskresikan ke dalam media pertumbuhannya. Faktor-faktor yang mempengaruhi produksi biosurfaktan oleh mikroorganisme dan pada perbedaan tipe molekul dari biosurfaktan yang berhasil disintesis telah menarik banyak perhatian para peneliti (Rosenberg, 1986; Oberbremer & Muller-Hurtig, 1989; Husain, 1996).

Biosurfaktan dibedakan dalam berbagai golongan (Cooper *et al.*, 1979. Bertrand *et al.*, 1994) antara lain glycolipida, lipopolysacharida, lipopeptida, phospholipida, lipida netral. Kondisi yang menentukan produksi biosurfaktan belum cukup diketahui dengan baik, tetapi pengaruh berbagai faktor seperti jenis substrat pertumbuhan, kondisi kultur (seperti temperatur, salinitas, dll), keberadaan nutrisi dan pada fase pertumbuhan terhadap produksi biosurfaktan telah cukup banyak diungkap (Matei *et al.*, 1986; Fernandez-Linares *et al.*, 1996).

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1. Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Mengetahui diversitas bakteri hidrokarbonoklastik di kawasan perairan pantai Surabaya
2. Mengungkap karakteristik bakteri hidrokarbonoklastik yang berhasil diisolasi dari kawasan perairan pantai Surabaya
3. Membuat koleksi strain-strain bakteri hidrokarbonoklastik.

3.2. Manfaat Penelitian

Manfaat yang didapatkan dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Mengungkap informasi ilmiah tentang keberadaan dan keanekaragaman bakteri hidrokarbonoklastik di kawasan perairan pantai Surabaya dan mengungkap ciri-ciri morfologis, fisiologis, dan biokimia dari berbagai strain bakteri hidrokarbonoklastik.
2. Didapatkan biakan bakteri hidrokarbonoklastik untuk kajian lebih lanjut berkaitan dengan upaya pemanfaatan potensi bakteri dalam bioremediasi lingkungan.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Pengambilan sampel berupa sedimen dan air dilakukan di kawasan perairan pantai Surabaya dan sekitarnya meliputi perairan pantai yang tercemar minyak (Pelabuhan Tanjung Perak dan Pelabuhan Gresik) dan perairan sungai yang diketahui sebagai pemasok bahan-bahan pencemar di perairan pantai Surabaya yaitu sungai Kali Surabaya dan di kanal Kali Wonokromo. Denah tempat pengambilan sampel ditunjukkan dalam lampiran 5. Uji Bakteriologis dari sampel sedimen dan air dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Airlangga.

Sumber pencemar yang ada di daerah pelabuhan baik yang ada di Tanjung Perak maupun Gresik adalah berupa limbah minyak pelumas bekas kapal yang dibuang secara langsung ke perairan saat kapal-kapal sedang berlabuh. Setiap kapal umumnya dilengkapi suatu wadah penampungan untuk oli atau minyak pelumas bekas yang disebut sebagai sparator. Minyak-minyak pelumas bekas yang tertampung dalam wadah tersebut mestinya harus ditampung dalam unit pengolahan limbah yang disediakan oleh pihak pelabuhan atau ditolelir untuk dibuang di perairan laut pada radius lebih dari 50 mil dari garis pantai. Akan tetapi dalam kenyataannya, banyak kapal-kapal yang membuang limbah minyak bekasnya di kawasan dermaga saat mereka sedang berlabuh. Hal ini disebabkan karena sampai saat ini pihak Perum Pelabuhan tidak menyediakan fasilitas penampungan dan pengolahan limbah serta tidak dijalkannya peraturan perundangan yang memberikan sanksi bagi para kapal yang membuang limbahnya di

kawasan perairan pantai berupa 6 bulan kurungan penjara (Supriyatna, 1999 komunikasi pribadi).

Adapun sumber pencemar yang ada di perairan sungai adalah berupa buangan limbah dari berbagai aktivitas yang berlokasi di sepanjang sungai Kali Surabaya yang kemudian mengalir ke perairan pantai antara lain melalui kanal Kali Wonokromo. Diketahui tidak kurang dari 70 industri yang membuang limbahnya ke sungai Kali Surabaya, selain itu didapati pula berbagai sumber limbah lain antara lain dari aktivitas pertanian, domestik, perbengkelan dan lain-lain.

Penelitian ini dilaksanakan selama lima bulan sejak Oktober 1999 sampai dengan Februari 2000.

4.2. Bahan dan Peralatan Penelitian

4.2.1. Bahan penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Sampel air dan sedimen yang diambil dari tiga lokasi di kawasan Pelabuhan Tanjung Perak Surabaya, satu lokasi Pelabuhan Gresik, satu kawasan mangrove (muara Kali Lamong), dan tiga lokasi perairan sungai (dua lokasi di daerah hulu yaitu Driyorejo dan Wonokromo dan satu lokasi di daerah hilir yaitu Wonorejo).
2. Air fisiologis yang mengandung 9 % NaCl untuk menghomogenkan sampel sedimen dan digunakan untuk mengencerkan sampel air dan sedimen.
3. Air laut natural steril yang diambil dari Pelabuhan Tanjung Perak Surabaya. Air laut tersebut disaring dengan menggunakan filter dengan diameter 0,45 μm dan disterilisasi dalam autoclave. Air laut natural steril diperkaya dengan menambahkan larutan Na_2HPO_4 (0,33 mM), FeSO_4 (0,1 mM), yang disterilkan secara terpisah. Air

laut natural ini dipakai sebagai media dasar pertumbuhan dan dalam pembuatan media selektif kultur bakteri hidrokarbonoklastik dari laut.

4. Air mineral makroelemen yang per liternya tersusun dari 9 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$, 1.5 g KH_2PO_4 , 2 g NH_4Cl , dan 0.2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, serta unsur mikroelemen yang per liternya tersusun dari 400 mg $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 400 mg $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 200 mg $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 40 mg CuSO_4 , 40 mg $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 300 mg KI, 50 mg $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Sebanyak 1 ml unsur mikro elemen tersebut ditambahkan ke dalam unsur makroelemen hingga mencapai volume 1 liter yang diperlukan untuk media dasar pertumbuhan dan isolasi kultur bakteri hidrokarbonoklastik dari perairan tawar/sungai (Daly *et al.*, 1997).
5. Media Agar untuk pembuatan media padat.
6. Substrat hidrokarbon digunakan sebagai substrat pertumbuhan bakteri hidrokarbonoklastik. Substrat hidrokarbon yang digunakan adalah minyak pelumas bekas kapal yang merupakan komponen utama yang mencemari perairan pantai dan juga merupakan senyawa hidrokarbon yang kompleks, sehingga diharapkan dalam proses isolasi akan didapatkan bakteri yang mampu mendegradasi berbagai senyawa hidrokarbon (alifatik, aromatik dan poliaromatik).
7. Media Nutrien Agar (23 g/l) untuk pemurnian strain bakteri hasil isolasi.
8. Zat pewarna Gram, H_2O_2 , dan bahan serta media untuk karakterisasi strain bakteri hidrokarbonoklastik yang terdiri dari Mac Conkey Agar, media agar darah (*Blood Agar*), MIO Agar, glukosa broth, sukrosa broth, maltosa broth, serum dan indol.
9. Rol film untuk dokumentasi foto.
10. Perlengkapan dan peralatan tulis

4.2.2. Peralatan penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Botol sampel yang telah disterilkan terlebih dahulu untuk mengambil sampel air.
2. Pengeruk Peterson (*Peterson Dredge*) untuk mengambil sampel sedimen di dasar perairan, dan *la-Mote* water-sampler untuk mengambil air (Gambar 2.).
3. Perlengkapan untuk pengambilan dan tempat sampel, yang terdiri dari : bunsen, sendok steril, botol bermulut lebar steril untuk tempat sampel sedimen dan botol steril untuk sampel air.
4. Box es untuk menyimpan sampel selama perjalanan sebelum dianalisis menuju laboratorium.
5. Peralatan umum dalam isolasi bakteri, yang meliputi : tabung reaksi, erlenmeyer, cawan petri, gelas beker, gelas ukur, *autoclave*, peralatan penyaring air laut, *magnetik steerer*, kompor listrik, spatula, jarum sonde, dan botol sampel untuk pengenceran sampel.

4.3. Prosedur Pengambilan Data

Prosedur yang ditempuh dalam penelitian ini secara garis besar diuraikan sebagai berikut.

1. Melakukan sampling sedimen lumpur dan air di berbagai lokasi penelitian. Sampel sedimen diambil dengan pengeruk *Peterson* dan sampel air diambil dengan *la-Mote* water sampler. Sampel sedimen dimasukkan botol bermulut lebar steril sedangkan sampel air dimasukkan dalam botol sampel steril. Sampel sedimen dan air dimasukkan ke dalam kotak es untuk dibawa ke Laboratorium.

2. Melakukan isolasi bakteri hidrokarbonoklastik dengan menggunakan modifikasi metode Bertrand *et al.*, 1993. 2 gram sedimen ditambahkan dengan 48 ml air fisiologis, divortex dan diendapkan. Supernatan yang mengandung bakteri dan sampel air siap untuk diisolasi.
3. Isolasi bakteri dilakukan dengan menggunakan dua cara, yaitu dengan media selektif padat dan cair. Isolasi dengan medium padat menggunakan metode *pour plate* dengan cara menambahkan 1 ml supernatan dari suspensi sedimen / sampel air ke dalam cawan petri dan kemudian dituangkan 20 ml medium selektif yang terdiri dari campuran air laut steril yang diperkaya dengan NH_4Cl (4 gr/l), Na_2HPO_4 (0,33 mM), dan FeSO_4 (0,1 mM), pH kultur diatur sampai 7,6 dengan menambahkan HCl 0,1 M, agar dan minyak pelumas (1 %). Substrat minyak pelumas ditambahkan saat media agar bersuhu sekitar 50°C , dihomogenkan dengan jalan divortex selama 5 menit. Kultur bakteri diinkubasi selama maksimum 8 hari. Sedangkan isolasi dengan medium cair dilakukan dengan cara menambahkan langsung 4 ml supernatan bakteri / sampel air dalam 100 ml media air laut steril yang diperkaya dengan NH_4Cl (4 gr/l), Na_2HPO_4 (0,33mM), dan FeSO_4 (0,1 mM) dalam erlenmeyer 500 ml yang telah diberi minyak pelumas sebanyak (1%). Kultur diinkubasi selama 3 minggu pada shaker dengan kecepatan 90 rpm dan pada suhu 30°C . Metode yang sama juga dilakukan untuk mengisolasi bakteri hidrokarbonoklastik dari perairan sungai, dengan mengganti media dasar air laut dengan air mineral yang komposisinya ada pada rincian bahan penelitian.
4. Bakteri yang tumbuh pada media padat minyak pelumas, merupakan bakteri hidrokarbonoklastik, diisolasi secara langsung dengan menumbuhkannya pada media nutrisi agar untuk dikarakterisasi lebih lanjut. Sedangkan bakteri

hidrokarbonoklastik yang berasal dari kultur media cair diisolasi dengan cara melakukan seri pengenceran suspensi kultur dengan menggunakan air fisiologis dan kemudian ditanam pada nutrien agar dengan menggunakan metode *pour plate* untuk mendapatkan koloni bakteri yang terpisah.

- 5 Koloni-koloni bakteri yang telah murni selanjutnya dikarakterisasi melalui berbagai uji di antaranya adalah: a). uji morfologis (pengecatan gram, pengamatan karakter morfologis koloni bakteri meliputi bentuk, diameter, warna, struktur dalam, tepi dan elevasi); b) uji fisiologis, (haemolisis darah, uji keberadaan enzim katalase dan oksidase, kemampuan koagulasi serum, uji motilitas), dan c) uji nutritif (kemampuan bakteri dalam menggunakan beberapa substrat pertumbuhan seperti glukosa, sukrosa, dan maltosa).
6. Bakteri-bakteri hidrokarbonoklastik yang berhasil dikarakterisasi kemudian diklasifikasikan menurut Holt, *et al.*, (1994) dan koleksi bakteri - bakteri hidrokarbonoklastik yang didapatkan dari berbagai artikel ilmiah baik nasional maupun internasional.

4.4. Teknik Analisis Data

Data yang didapatkan berupa data keanekaragaman strain bakteri hidrokarbonoklastik dari perairan pantai Surabaya dan perairan sungai serta karakteristik dari masing-masing strain bakteri. Interpretasi data dilakukan secara deskriptif didasarkan pada kemelimpahan dan distribusi strain bakteri hasil isolasi pada berbagai lokasi pengambilan sampel yang berbeda. .

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Bakteri Hidrokarbonoklastik yang Berhasil Diisolasi

Hasil pencarian strain bakteri hidrokarbonoklastik di kawasan perairan pantai Surabaya dan sekitarnya dengan menggunakan minyak pelumas bekas kapal sebagai substrat pertumbuhannya, didapati 24 strain bakteri yang digolongkan ke dalam 8 genus bakteri, yaitu *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Moraxella*, *Pediococcus*, dan *Pseudomonas*. Karakteristik strain-strain bakteri tersebut terutama didasarkan pada karakter morfologis (bentuk sel, pewarnaan gram, morfologis koloni bakteri), sifat dan kemampuan tumbuh, antara lain pada media Mac Conkey, media agar darah, keberadaan enzim oksidase dan katalase, daya koagulasi serum serta pertumbuhannya pada berbagai substrat seperti glukosa, sukrosa, dan maltosa.

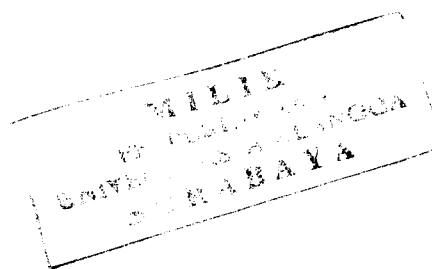
Strain bakteri yang didapat merupakan jenis-jenis strain bakteri yang banyak ditemukan pada perairan yang tercemar oleh hidrokarbon minyak bumi (Atlas, 1981). Karakteristik secara lengkap dari 24 strain bakteri tersebut disajikan pada Tabel 2 dan Tabel 3.

Minyak pelumas bekas kapal merupakan senyawa hidrokarbon kompleks yang terdiri dari berbagai fraksi hidrokarbon. Bakteri-bakteri yang mampu menggunakan minyak pelumas sebagai substrat pertumbuhannya dan berhasil diisolasi dalam penelitian ini dapat digolongkan dalam bakteri hidrokarbonoklastik (Floodgate, 1995).

Berdasarkan informasi dari berbagai hasil penelitian yang telah dilakukan tentang bakteri pendegradasi minyak, didapatkan bahwa genera bakteri hidrokarbono-

Tabel 2. Karakteristik morfologis bakteri hidrokarbonoklastik dari kawasan perairan pantai Surabaya dan sekitarnya

Strain bakteri	Berbagai uji morfologis							
	Karakter koloni						Karakter sel	
	Bentuk	Ø (mm)	Warna	Struktur dalam	Tepi	Elevasi	Bentuk	Gram
<i>Pseudomonas sp. 1</i>	Bulat	1	Transparan	Bening	Rata	Cembung	Basil	-
<i>Pseudomonas sp. 2</i>	Bulat	0.5	Putih	Bening	Rata	Cembung	Kokobasil	-
<i>Pseudomonas sp. 3</i>	Bulat	1	Putih	Halus	Rata	Timbul	Kokobasil	-
<i>Pseudomonas sp. 4</i>	Bulat	1	Fluoresence	Halus	Rata	Cembung	Kokobasil	-
<i>Pseudomonas sp. 5</i>	Bulat	1	Fluoresence	Halus	Rata	Cembung	Basil	-
<i>Pseudomonas sp. 6</i>	Bulat	0.5	Transparan	Granula	Rata	Cembung	Basil	-
<i>Pseudomonas sp. 7</i>	Bulat	2.5 - 3	Krem	Granula	Rata	Timbul	Kokobasil	-
<i>Pseudomonas sp. 8</i>	Bulat	2	Putih	Keruh	Rata	Cembung	Kokobasil	-
<i>Pseudomonas sp. 9</i>	Bulat	1 - 1.5	Fluoresence	Halus	Rata	Cembung	Kokobasil	-
<i>Arthrobacter sp. 1</i>	Bulat	3	Krem - coklat	Halus	Rata	Tombol	Kokobasil	-
<i>Arthrobacter sp. 2</i>	Bulat	1	Kehijauan	Halus	Rata	Cembung	Kokobasil	+
<i>Alcaligenes sp. 1</i>	Spreader	-	Fluoresence	Bening	Rata	Datar	Kokobasil	+
<i>Alcaligenes sp. 2</i>	Ireguler	1 - 2	Kekuningan	Keruh	Gelombang	Datar	Kokobasil	-
<i>Alcaligenes sp. 3</i>	Konsentris	2	Krem	Halus	Rata	Cembung	Kokobasil	-
<i>Pediococcus sp. 1</i>	Bulat	0.5	Krem	Halus	Rata	Cembung	Kokus	+
<i>Acinetobacter sp. 1</i>	Bulat	1	Putih	Halus	Gelombang	Datar	Basil	-
<i>Acinetobacter sp. 2</i>	Bulat	3	Kekuningan	Keruh	Rata	Cembung	Kokobasil	-
<i>Acinetobacter sp. 3</i>	Bulat	0.5	Kekuningan	Bening	Rata	Cembung	Kokobasil	-
<i>Micrococcus sp. 1</i>	Bulat	2 - 2.5	Putih	Keruh	Rata	Cembung	Kokus	+
<i>Micrococcus sp. 2</i>	Bulat	0.5	Kuning	Halus	Rata	Cembung	Kokus	+
<i>Moraxella sp. 1</i>	Bulat	2	Putih krem	Halus	Rata	Cembung	Kokobasil	+
<i>Moraxella sp. 2</i>	Konsentris	8	Kuning coklat	Halus	Gelombang	Datar	Kokobasil	+
<i>Flavobacterium sp. 1</i>	Bulat	1	Putih keruh	Keruh	Rata	Tombol	Kokus	+
<i>Flavobacterium sp. 2</i>	Bulat	2	Kuning	Keruh	Rata	Cembung	Kokus	+



Tabel 3. Karakteristik fisiologis dan nutritif berbagai strain bakteri hidrokarbonoklastik dari kawasan perairan pantai Surabaya dan sekitarnya

Strain bakteri	Berbagai uji fisiologis dan nutrisi								
	Mac Concey	Agar darah	Motilitas	Katalase	Oksidase	Koagulase	Glukose	Sukrose	Maltose
<i>Pseudomonas sp.1</i>	+	+/-	+	+	+	-	+	+	+
<i>Pseudomonas sp.2</i>	+	-	+	+	+	-	+	+	+
<i>Pseudomonas sp.3</i>	+	-	+	-	+	-	+	+	+
<i>Pseudomonas sp.4</i>	+	-	+	-	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas sp.5</i>	+	++	+	-	+	-	+	+	+
<i>Pseudomonas sp.6</i>	+	++	+	+	+	-	d	d	d
<i>Pseudomonas sp.7</i>	+	++	+	++	+	-	+	+	+
<i>Pseudomonas sp.8</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>Pseudomonas sp.9</i>	+	++	+	-	+	+	+	+	+
<i>Arthrobacter sp.1</i>	+	+	+	++	-	+	+	+	+
<i>Arthrobacter sp.2</i>	+	-	+	+	-	+	+	+	+
<i>Alcaligenes sp.1</i>	+	++	+	+	+	-	-	-	-
<i>Alcaligenes sp.2</i>	+	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>Alcaligenes sp.3</i>	+	++	+	+	+	-	d	-	-
<i>Pediococcus sp.1</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Acinetobacter sp.1</i>	+	-	+	+	-	-	-	-	-
<i>Acinetobacter sp.2</i>	+	-	+	d	-	-	-	-	-
<i>Acinetobacter sp.3</i>	+	-	+	++	-	-	d	-	-
<i>Micrococcus sp.1</i>	-	-	-	++	-	-	-	-	-
<i>Micrococcus sp.2</i>	-	-	-	+	-	-	+	-	-
<i>Moraxella sp.1</i>	+	-	+	++	+	+	+	+	+
<i>Moraxella sp.2</i>	+	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>Flavobacterium sp.1</i>	-	-	-	d	+	-	-	-	-
<i>Flavobacterium sp.2</i>	-	-	-	+	+	-	-	-	-

klastik yang berhasil diisolasi dari kawasan perairan pantai dan perairan sungai di Surabaya dapat digolongkan dalam genera bakteri yang diduga mempunyai kemampuan yang berbeda-beda dalam mendegradasi berbagai komponen minyak dari senyawa alifatik, aromatik, dan poliaromatik (Ni'matuzahroh, 1998).

5.2. Distribusi Bakteri Hidrokarbonoklastik Hasil Isolasi

Keberadaan dan penyebaran jenis – jenis bakteri hidrokarbonoklastik yang ditemukan pada setiap lokasi pengambilan sampel pada perairan pantai dan perairan sungai di Surabaya disajikan pada Tabel 4. Dari tabel di atas dapat diinformasikan bahwa jumlah jenis bakteri yang diisolasi dari kawasan perairan pantai ditemukan lebih banyak dari pada perairan sungai.

Dari data tersebut dapat diduga bahwa keanekaragaman jenis bakteri hidrokarbonoklastik dari kawasan perairan pantai lebih tinggi dibandingkan dengan yang didapatkan dari perairan sungai. Jumlah jenis bakteri hidrokarbonoklastik ditemukan terbanyak pada sampel sedimen stasiun 3 pada kawasan perairan pantai di pelabuhan Tanjung Perak Surabaya (TP3) (Gambar 2), dimana sedimen yang diambil pada lokasi tersebut merupakan sedimen berlumpur minyak. Kondisi tersebut secara tidak langsung mencerminkan banyaknya buangan limbah minyak pelumas oleh kapal ke dalam perairan pantai di Pelabuhan Tanjung Perak Surabaya. Dari penelitian-penelitian yang banyak dilakukan tentang isolasi bakteri hidrokarbonoklastik didapatkan bahwa kemelimpahan bakteri hidrokarbonoklastik banyak terjadi pada permukaan sedimen dasar perairan. Kenaikan jumlah bakteri hidrokarbonoklastik yang cukup berarti juga didapatkan pada daerah yang tercemar dibanding daerah yang tidak tercemar oleh hidrokarbon (Braddock, J.F. *et al.*, 1995).

Tabel 4 . Distribusi strain bakteri hidrokarbonoklastik pada berbagai lokasi pengambilan sampel (TP1=Pelabuhan Tanjung Perak stasiun 1; PG=Pelabuhan Gresik; WK= Wonokromo; WR=Wonorejo; DR=Driyorejo; MG=Mangrove; a=sampel air, dan s= sampel sedimen)

Lokasi Isolat bakteri	TP1		TP2		TP3		PG		WK		WR		DR		MG	
	a	s	a	s	a	s	a	s	a	s	a	s	a	s	a	s
<i>Pseudomonas sp.1</i>											√					
<i>Pseudomonas sp.2</i>	√				√									√		
<i>Pseudomonas sp.3</i>		√														
<i>Pseudomonas sp.4</i>		√			√				√	√		√			√	√
<i>Pseudomonas sp.5</i>					√	√				√						
<i>Pseudomonas sp.6</i>						√										
<i>Pseudomonas sp.7</i>					√	√										
<i>Pseudomonas sp.8</i>						√					√					
<i>Pseudomonas sp.9</i>						√										
<i>Arthrobacter sp.1</i>	√	√	√	√	√	√					√	√				
<i>Arthrobacter sp.2</i>	√															
<i>Alcaligenes sp.1</i>	√			√		√			√	√	√		√	√		
<i>Alcaligenes sp.2</i>	√							√	√	√		√		√		
<i>Alcaligenes sp.3</i>	√		√	√		√			√	√	√	√	√	√	√	
<i>Pediococcus sp.1</i>						√										
<i>Acinetobacter sp.1</i>			√	√			√	√	√		√	√	√	√		
<i>Acinetobacter sp.2</i>								√					√	√	√	√
<i>Acinetobacter sp.3</i>			√													
<i>Micrococcus sp.1</i>						√										
<i>Micrococcus sp.2</i>								√								
<i>Moraxella sp.1</i>	√		√	√								√				
<i>Moraxella sp.2</i>	√	√		√	√	√				√						
<i>Flavobacterium sp.1</i>						√	√									
<i>Flavobacterium sp.2</i>							√									

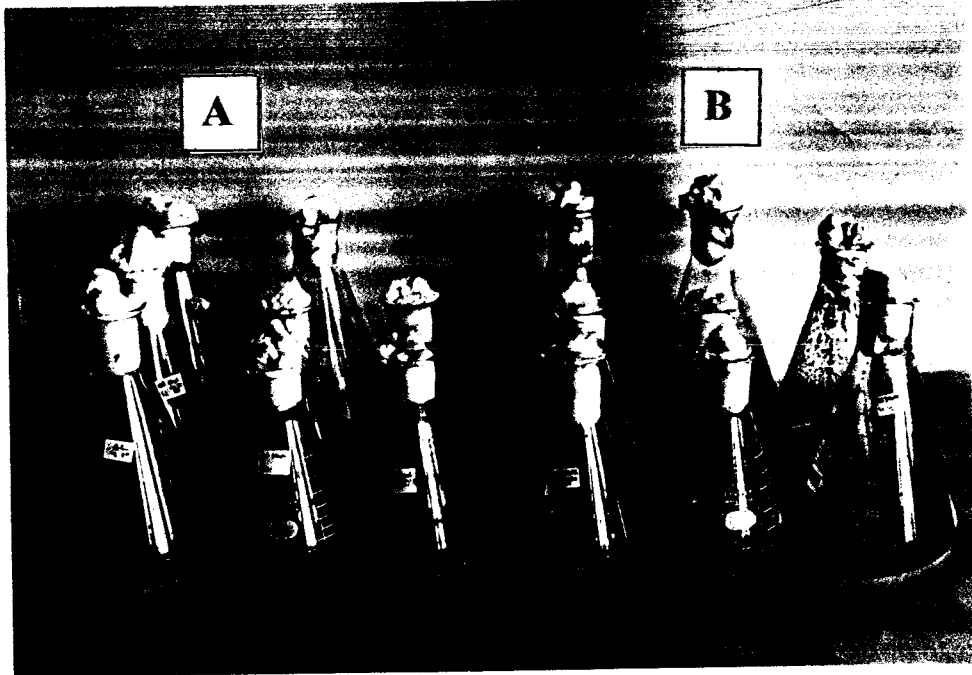


Gambar 2. Sampel sedimen yang diambil dengan Peterson grab yang berwarna hitam-pekak sebagai bukti adanya pencemaran minyak yang diambil dari dasar perairan di kawasan Pelabuhan Tanjung Perak Surabaya

Dari uji karakterisasi bakteri hasil isolasi ditemukan adanya persamaan strain bakteri pada dua kondisi perairan yang berbeda. Hal tersebut bisa diduga bahwa strain-strain genus bakteri hidrokarbonoklastik tersebut bersifat halotoleran, yang berarti mampu hidup pada kisaran konsentrasi NaCl yang cukup luas. Sedangkan ciri khas bakteri laut adalah tergolong pada bakteri halofil, yang mutlak membutuhkan keberadaan NaCl dalam pertumbuhannya (Larsen, 1967; Rambeloarisoa, *et al.*, 1984).

Dari pengamatan pertumbuhan bakteri pada erlenmeyer, ditemukan bahwa strain-strain bakteri yang diisolasi pada perairan pantai maupun dari perairan sungai diduga mempunyai mekanisme yang mungkin berbeda dalam mengasimilasi hidrokarbon. Pada kultur bakteri dari perairan sungai terdapat perubahan warna menjadi coklat susu disertai adanya flok-flok hitam minyak sedangkan pada kultur bakteri dari

sampel perairan pantai, terlihat emulsi minyak yang merata Gambar 4. Kenyataan ini memberikan informasi awal yang cukup menarik untuk diungkap tentang mekanisme strain-strain bakteri hasil isolasi tersebut dalam mengasimilasi hidrokarbon. Dari penelitian - penelitian terdahulu sudah banyak dipublikasikan kemampuan strain-stran bakteri dari perairan pantai misalnya dari genus *Pseudomonas*, *Alcaligenes* dan *Arthrobacter* dalam menghasilkan biosurfaktan yang mampu meningkatkan emulsifika-



Gambar 4. Kultur cair pertumbuhan bakteri yang didapatkan dari laut (A) dan perairan sungai (B). Tampak bahwa kultur bakteri asal laut menunjukkan tersuspensi secara merata, sedangkan pada kultur bakteri asal sungai menunjukkan flok-flok hitam yang merupakan massa gabungan antara bakteri dan substrat (minyak)

si hidrokarbon sehingga dapat memacu tingkat biodegradasi hidrokarbon (Ni'matuzahroh, 1998). Oleh sebab itu upaya untuk mengkaji mekanisme yang dikembangkan oleh masing strain bakteri dalam mendegradasi hidrokarbon juga sangat menarik untuk diungkap guna mengetahui bagaimana bakteri hidrokarbonoklastik dalam mengasimilasi hidrokarbon.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut.

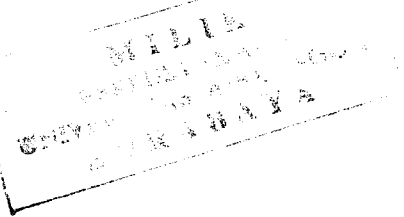
1. Jumlah strain bakteri bakteri hidrokarbonoklastik yang diisolasi dari kawasan perairan pantai Surabaya ditemukan lebih banyak dari yang diisolasi dari perairan sungai.
2. Jenis bakteri hidrokarbonoklastik paling banyak ditemukan pada sedimen perairan pantai yang terkontaminasi minyak.
3. Strain-strain bakteri hidrokarbonoklastik yang berhasil diisolasi ada 24 strain yang tergolong dalam 8 genus yaitu *Pseudomonas sp.* (9) *Arthrobacter sp.* (2), *Alcaligenes sp.* (3), *Acinetobacter sp.* (3), *Pediococcus sp.* (1), *Micrococcus sp.* (2) *Moraxella sp.* (2), dan *Flavobacterium sp.*(2).

5.2. Saran

Berdasarkan hasil yang telah didapatkan dalam penelitian ini, disarankan adanya penelitian lanjutan , khususnya yang mengkaji kemampuan masing-masing strain bakteri hidrokarbonoklastik dalam mendegradasi berbagai senyawa hidrokarbon, mengungkap mekanisme asimilasi dari masing-masing strain bakteri tersebut dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon, mengungkap potensi bakteri hidrokarbonoklastik tersebut dalam menghasilkan biosurfaktan, dan mengetahui gen yang bertanggung

jawab dalam proses degradasi hidrokarbon. Serangkaian penelitian tersebut sangat penting dilakukan sebagai upaya tindak lanjut dalam memanfaatkan potensi bakteri hidrokarbonoklastik endogen hasil isolasi untuk bioremediasi lingkungan yang tercemar hidrokarbon (minyak).

DAFTAR PUSTAKA



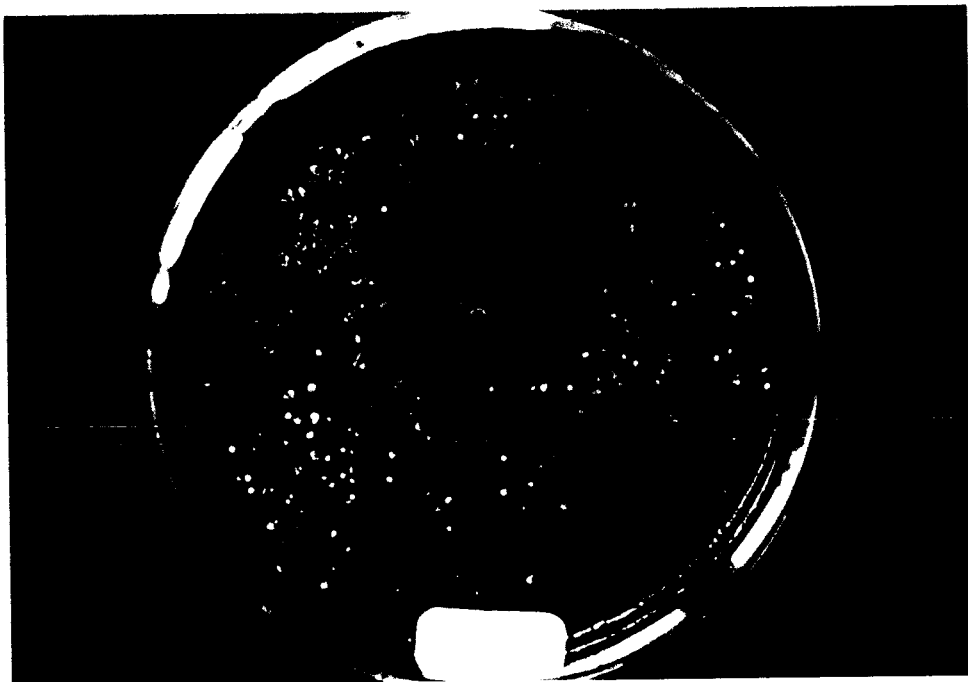
- Al-Mallah, M., Goutx, M., Mille, G. & Bertrand, J.C. 1990. Production of emulsifying agents during growth of a marine *Alteromonas* in seawater with eicosane as carbon source, a solid hydrocarbon. Oil & Chemical pollution 6: 289 – 305.
- Anonimus, 1985. Petroleum in the marine environment Natinal Academy of Science, Washington , D.C.
- Amin, M., El-Dien, A., Hosny, M.S. & El-Mohammady, Y. 1996. Involvement of bacterial cell surface hydrophobicity in the biodegradation of petroleum hydrocarbons. Al-Alzhar J. Microbiol. 31: 1 – 12.
- Atlas, R.M., 1981. Microbial degradation of petroleum hidrocarbons: an environmental perspective. Microbial. Rev. 45: 180 – 209.
- Bartha, R. & Atlas, R.M., 1987. Transport and Transformation of petroleum: biological processes. In Boesch, D.F. % Rabalais, N.N. Long Term environmental effect offshore oil gas development, Elsevier, London, 287 – 342.
- Bertrand, J.C. , Rambeloarisoa, E., Rontani, J.C., Giusti, G., Mattei, G. 1983. Microbial degradation of crude oil in sea water in continuous culture. Bicotechnol. Lett., 5 – 567.
- Bertrand, J.C., Bonin, P., Goutx, M., Mille, G., Gilewicz, M. 1993. Biosurfactant producing by marine microorganisms: Potential application to fighting hydrocarbon marine pollution. J.Mar. Biotechnol. 1: 125 – 129.
- Berwick, P.G. 1984. Physical and chemical condition for microbial oil degradation. Biotechnol. Bioeng. 26: 125 – 138.
- Blumer, M. 1969. Oil pollution of the ocean. In : Oil on the sea (D.P. Hoult, Ed.). Plenum Press, New York. 5 – 13.
- Blumer, M., M.M., Mullin and R.R.;L. Guillard. 1970. A polysaturated hydrocarbon (3,6,9,12,15,18-heneicosahexane) in the marine food web. Ar. Biol. Berl. 21: 163 – 172.
- Bossertt, I.I. & Bartha, R., 1984. Tha fate of petroleum in soil ecosystem. In Atlas R.M. Petroleum Microbiology, Mac Millan Publishing Co., New York, 434 – 476.
- Braddock, J.F., Lindstrom, J.E. & Brown, E.J. 1995. Distribution of hidrocarbon-degrading microorganisms in sediments from Prince William Sound, Alaska, following the Exxon Valdez Oil Spill. Marine Pollution Bulletin, Elsevier, London, 30, 2: 125 – 132.
- Bruchon, F. 1997. Biodegradation des hydrocarbures : Influence de nutriments carbonés dans la biorestauration par fertilisation. These de Universite de la Mediterranee – Aix Marseille II.
- Calberg, SR. 1980. Oil pollution of the marine environment – with an emphasis on estuarine studies. Chemistry and Biogeochemistry of Estuaries. John Wiley & Sons Ltd. 12: 367 – 401.

- Clark, R.C; Jr. and M. Blumer. 1976. Distribution of n-paraffins in marine organism and sediments. Limn. Oceanogr. 12: 79 – 87.
- Clark, R.C; Jr. and D.W. Brown. 1977. Petroleum: Properties and analysis in biotic and abiotik systems. In : Effect of petroleum on Artics and Subartics marine environment and organisms (D.C. Malin, ed.). Academic Press. Inc. Vol 1: 1 – 89.
- Cerniglia. 1984. Microbial transformation of aromatic hydrocarbons. In Atlas, R.M. Petroleum microbiology, Mac Millan Publishing company, New York, 99 – 128.
- Cerniglia, C.E. 1992. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. Biodegradation. 3: 351 – 368.
- Cooney, J.J., 1984. The fate of petroleum pollutant in freshwater ecosystem. In Atlas, R.M. Petroleum microbiology, Mac Millan Publishing Company, New York, 933 – 433.
- Daly, K., Dixon, A.C., Swannell, R.P.J, Lepo, J.E., Head, I.M. 1997 Diversity among aromatic hydrocarbon-degrading bacteria and their meta-cleavage genes. J. of Applied Microbiology. 83: 421 – 429.
- Davis, J.B. 1986. Praffinic hydrocarbons in the sulfate reducing bacterium. Desulfovibrio desulfuricans. Chem. Geology. 155 – 160.
- Ducreux, J., ballerini, D. & Bocard, C. 1994. The role of surfactants in enhanced in situ bioremediation. In. Hinchee, R.E., Alleman, B.C., Hoepfel, R.E. & Miller, R.M. Hydrocarbon bioremediation, Lewis Publishers, Boca raton, FL, 2377 – 242.
- El-Nawawy. A.S., El- Bagouri, I.H., Abdal, M., Khalafawi, M.S. 1992. Biodegradation of oily sludge in Kuwait soil. World J. Microbiol. Biotechnol. 8: 618 – 620.
- Farrington, J.W. and P.A. Meyers. 1975. Hydrocarbons in the marine environment. In Environmental Chemistry. G. englinton, Ed. The Chemical Society, London. Vol 1: 109 – 136.
- Fedorak, P.M., Westlake, D.W.S. 1983. Selective degradation of biphenyl and methylbiphenyls in crude oil by two strains of marine bacteria. Can. J. Microbiol. 29: 497 – 503.
- Fernandez-Linares, L., Acquaviva, M. , Bertrand, J.C. & Gauthier, M., 1996. Effect of sodium chloride concentration on growth and degradation of eicosane by the marine halotolerant bacterium *Marinobacter hydrocarbonoclasticus*. Syst. Appl. Microbiol. 19(1): 113 – 121.
- Floodgate, G.D., 1984. The fate of petroleum in marine ecosystem; In Atlas, R.M. petroleum microbiology, Mac Milian Publishing Company, New York, 355 – 397.
- Floodgate, G.D., 1995. Some environmental aspect of marine hydrocarbon bacteriology. Aq. Microb. Ecol. 9: 3 – 11.
- Gilewicz, M. Ni'matuzahroh, Nadalig, T., Budzinski, H., Doumencq, P., Michotey, V. and Bertrand, J.C. 1997. Isolation and characterization of a marine bacterium capable of utilizing 2-methylphenanthrene. Appl. Microbiol. Biotechnol. 48: 528 – 533.

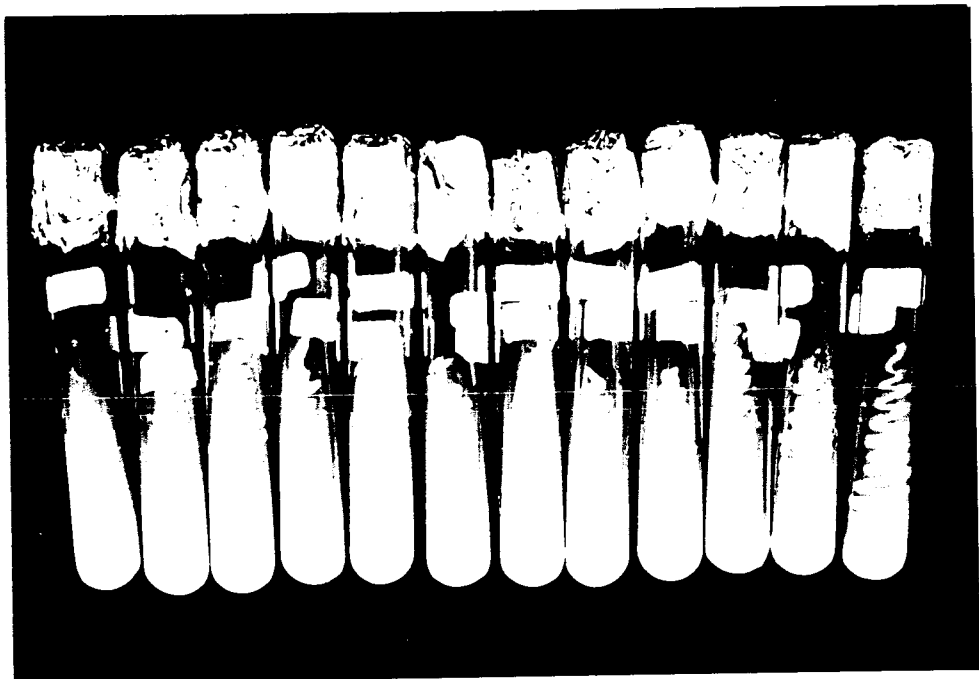
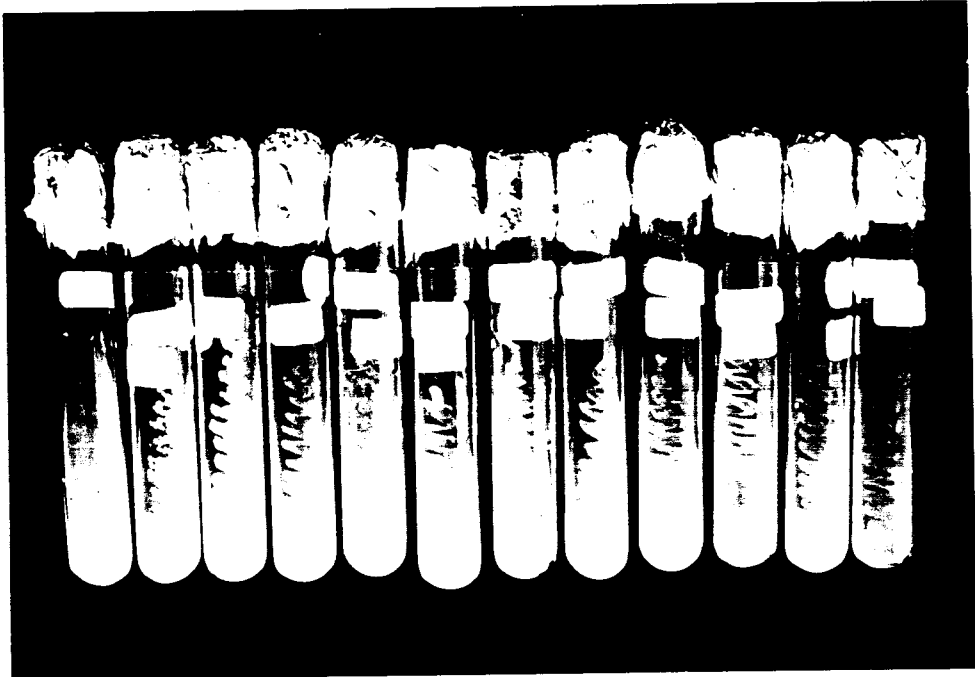
- Hase, A. & Hites, R.A. 1976. On the origin of polycyclic aromatic hydrocarbons in recent sediments: biosynthesis by anaerobic bacteria. Geochim. Cosmochim. Acta. 40 : 1141 – 1143.
- Hoff, R.Z. 1993. Bioremediation: an overview of its development and use for oil spill clean up. Marine Pollution Bulletin 26(9) : 476 – 481.
- Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, & S.T. Williams, 1994. Bergey's manual of determinative bacteriology. Ninth Edds. Williams & Wilkins. Baltimore. Philadelphia . Hong Kong . London . Munich . Sydney . Tokyo.
- Hutchins, S.R. 1991. Biodegradation of monoaromatic hydrocarbons by aquifer microorganisms using oxygen, nitrate, or nitrous oxide as the terminal electron acceptor. Appl. Environ. Microbiol. 57(8): 2403 – 2407.
- Husain, D.R. 1996. Biodegradation des n-alcanes par la bacterie marine *Pseudomonas nautica* 617. These, Universite de la Mediterranee. France.
- Knoor, M. and Schenk, D.S. 1968. Synthesis of polycyclic aromatic compounds by bacteria. Arch. Hyg. Bacteriology. 152 (3): 282 – 285.
- Korda, A., Santas, P., Tenente, A., Santas, A. 1997. Petroleum hydrocarbon bioremediation: sampling and analytical techniques, in situ treatment and commercial microorganism currently used. Appl. Microbial. Biotechnol. 48: 677 – 686.
- Larsen, H. 1967. Biochemical aspect of extreme halophilism. Adv. Microbi. Physiol. 1: 97 – 132.
- Leahy, J.G. & Collwell, R.R., 1990. Microbial degradation of hydrocarbon in the environment. Microbiological Reviews 54(3): 305 – 315.
- Lee, R.F., Nevenzel, J.C., Paffenhofer, G.A., Benson, A.A., Parron, S., Kavanagh, T.E. 1970. A unique hexane hydrocarbons from a diatom (*Shkeletonema Costatum*). Biochem. Biophys. Acta. 202: 386 – 388.
- Lee, R.F. and Loeblich, A.R. 1971. Distribution of 21 : 6 hydrocarbons and its relationships to 22 : 6 fatty acid in algae. Phytochemistry 10: 593 – 602.
- Mallet, L. & Tisser, M. 1969. Biosynthesis of polycyclic hydrocarbons of the benzo(a)pyrene type in forest soil. C.R. Soc. Biol. 161: 63 – 65.
- Mattei, G., Rambeloarisa, E., Giusti, G., Rontani, J.F. & Bertrand, J.C. 1986. Fermentation procedure of a crude oil in continuous culture on sea water. Applied Microbiology and Biotechnology. 23: 302 – 304.
- Miller, R.M. & Bartha, R. 1989. Evidence from liposome encapsulating for transport limited microbial metabolism of solid alkanes. Applied and Environmental Microbiology. 55(2) : 269 – 274.
- Mulyono, M. 1991. Hidrokarbon di dalam lingkungan perairan. Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi Minyak dan Gas Bumi, LEMIGAS. Jakarta.
- Ni'matuzahroh. 1998. Biodegradation des hydrocarbures polyaromatiques par la bacterie marine *Sphingomonas Sp.* 2MPII. Disertasi S3. Marseille , France.

- Oberbremer, A., Mueller – Hartig, R. 1989. Aerobic stepwise hydrocarbon degradation and formation of biosurfactants by an original soil population in a stirred reactor. Applied and Environmental Biotechnology. 31(5- 6): 582 – 586.
- Oudot, J., 1984. Rates of microbial degradation of petroleum components as determined by computerized capillary gas chromatography and computerized mass spectrometry. Marine environmental research, 13(4); 277 – 302.
- Pettigrew, C.A., Haigler, B.E., Spain, J.C. 1991. Simultaneous biodegradation of chlorobenzene and toluene by a *Pseudomonas* strain. Appl. Environ. Microbiol. 57(1): 157 – 162.
- Rambeloarisoa, E., Rontaniii, J.F., Giusti, G., Duvnjak, Z., Bertrand, J.C. 1984. Degradation of crude oil by mixed population of bacteria isolated from sea-surface foams. Marine Biology. Springer-Verlag, 83: 69 – 81.
- Rosenberg, E. 1986. Microbial surfactants. CRC Crit.Rev. Biotechnol. 3: 109 – 132.
- Salot, A. 1981. Natural hydrocarbons in sea water. 327 – 374. In : E.K. Duursma & R. Dawson, eds. Marine Organism Chemistry. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam.
- Singer, J.T. & Finnerty, W.R. 1984. Microbial metabolism of straight-chain and branched alkanes. In Atlas, R.M. Petroleum Microbiology, Macmillan Publishing Co., New York, N.Y., 299-354.
- Stewart, P.S. Tedaldi, D.J., Lewis, A.R., Goldman, E. 1993. Biodegradation rates of crude oil in sea water. Water Environ. Res. 65: 845 – 848.
- Swannell, R.P.J., Tookey, D. & McDonagh, M. 1994. Bioremediation of oil spills: a state of the art review. Warren Spring Laboratory, LR1008.
- Tardy-Jacquenod, C. Caumette, P., Matheron, R., Lanau, C., Arnaud, O. & Magot, M., 1996. Characterization of sulfate-reducing bacteria isolated from oil-field waters. Canadian Journal of microbiology. 42(3): 259 – 266.
- Tyagi, R.D., Tran, F.T., Chowdhury, A.K.M.M. 1993. A pilot study of biodegradation of petroleum refinery wastewater in a polyurethane-attached RBC. Process Biochem. 28: 75 – 82.
- Youngblood, W.W., Blumer, M., Guillard, R.I. and Fiore, F. 1971. Saturated and unsaturated hydrocarbons in marine benthic algae. Mar. Bio. (Berl). 8: 190 – 201.
- Youngblood, W.W., Blumer, M. 1973. Alkanes and alkenes in marine benthic algae. Mar. Biol. 21: 163 – 172.
- Whittle, K.J. 1977. Marine organisms and their contribution to organic matter in the ocean. Marine Chemistry. 5: 381 – 411.
- Zhang, Y. & Miller, R.M. 1992. Enhanced octadecane dispersion and biodegradation by a *Pseudomonas* rhamnolipid surfactant. Applied and environmental Microbiology. 58: 3276 – 3282.
- Zhang, Y. & Miller, R.M. 1994. Effect of a *Pseudomonas* rhamnolipid biosurfactant on cell hydrophobicity and biodegradation of octadecane. Applied and environmental Microbiology 60: 2101 – 2106.

LAMPIRAN 1. Gambar kultur bakteri dalam medium selektif minyak pelumas



LAMPIRAN 2. Gambar isolat strain bakteri dari kawasan perairan pantai Surabaya dan sekitarnya



LAMPIRAN 3. Panduan karakteristik morfologis untuk identifikasi bakteri

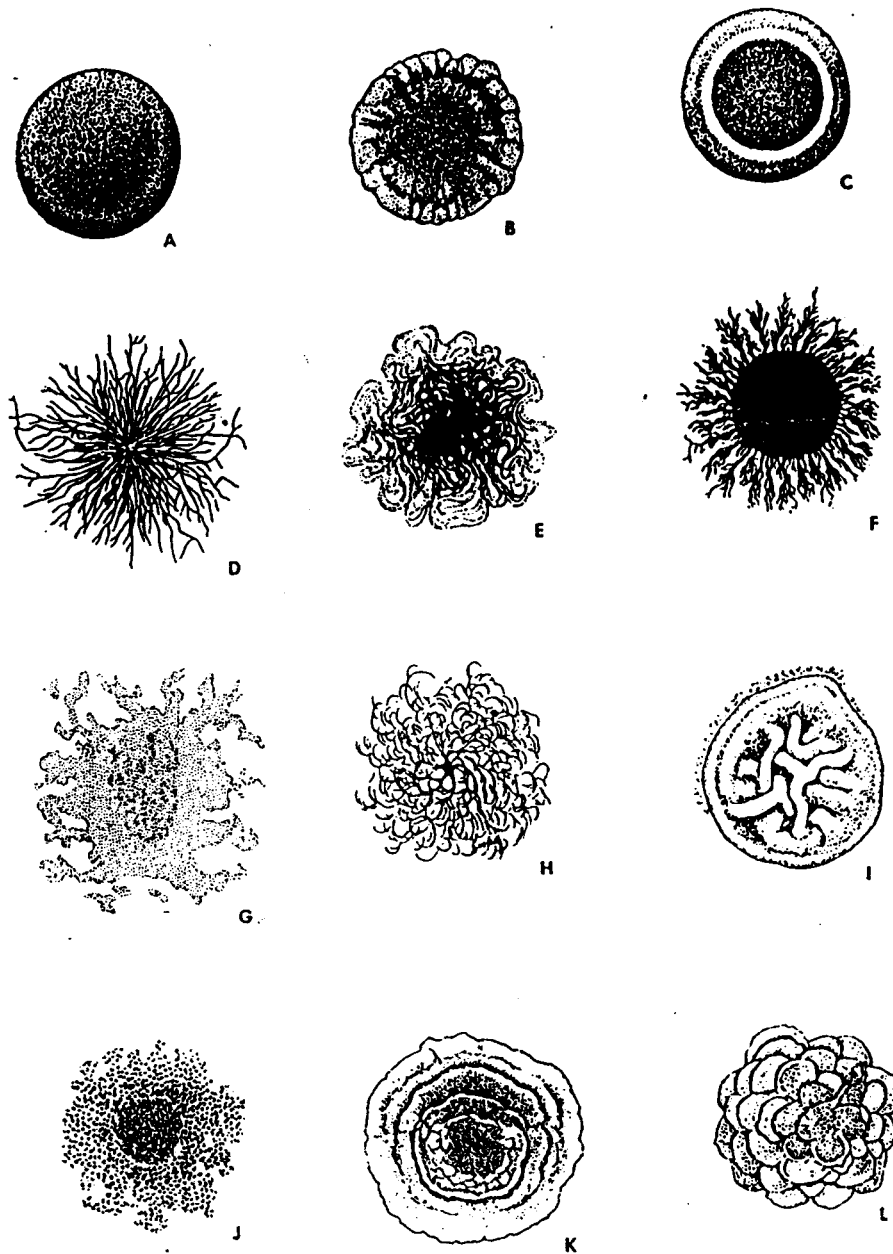
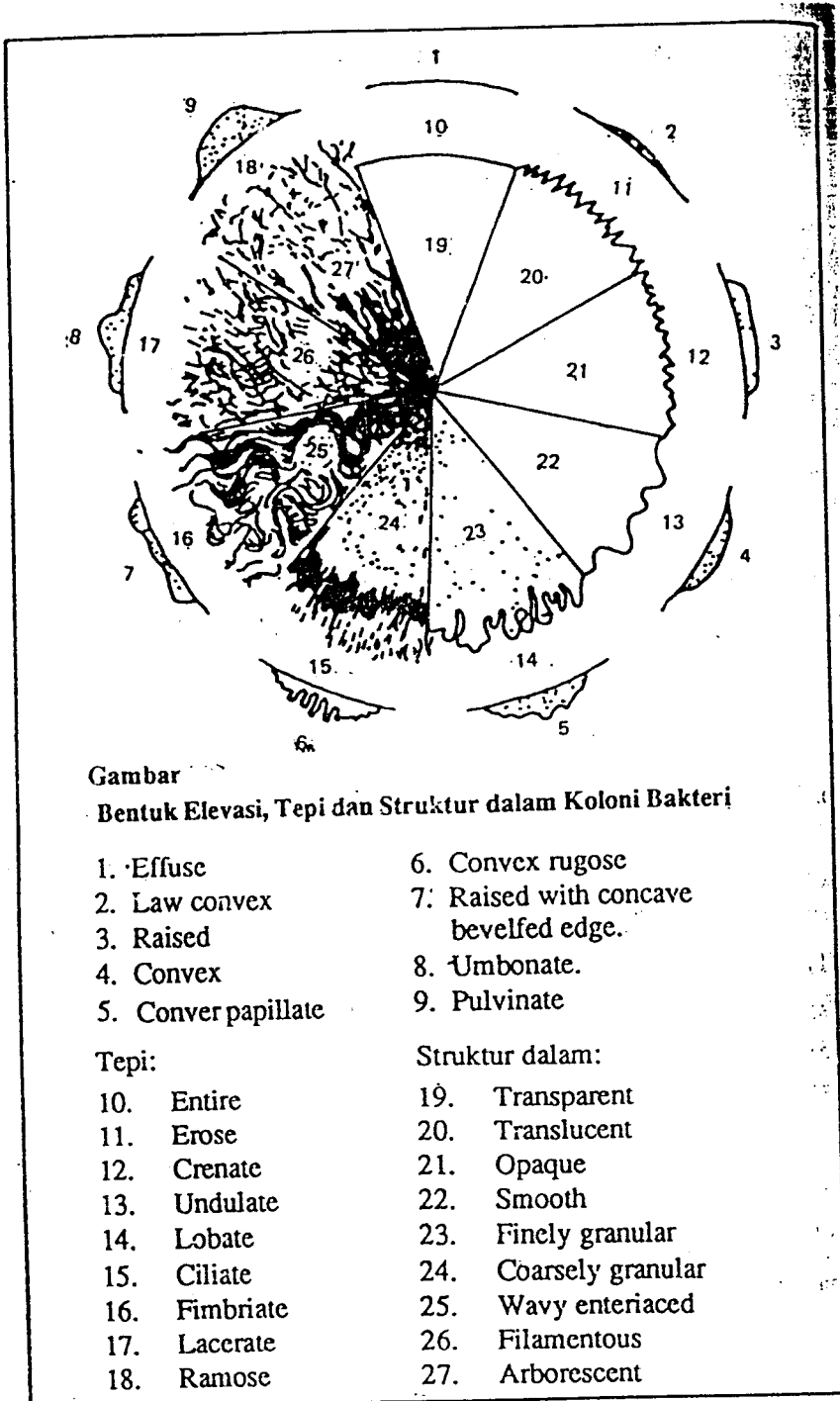


Fig. Shape of bacterial colonies: A, Round; B, round with a scalloped edge (irregular); C, round with a ridge along the edge; D, branching; E, filiform; F, radiating edge; G, spreading; H, rhizoid; I, wrinkled; J, irregular; K, concentric; L, complex.

LAMPIRAN 3. Lanjutan



LAMPIRAN 4. Gambar beberapa lokasi beberapa tempat pengambilan sampel

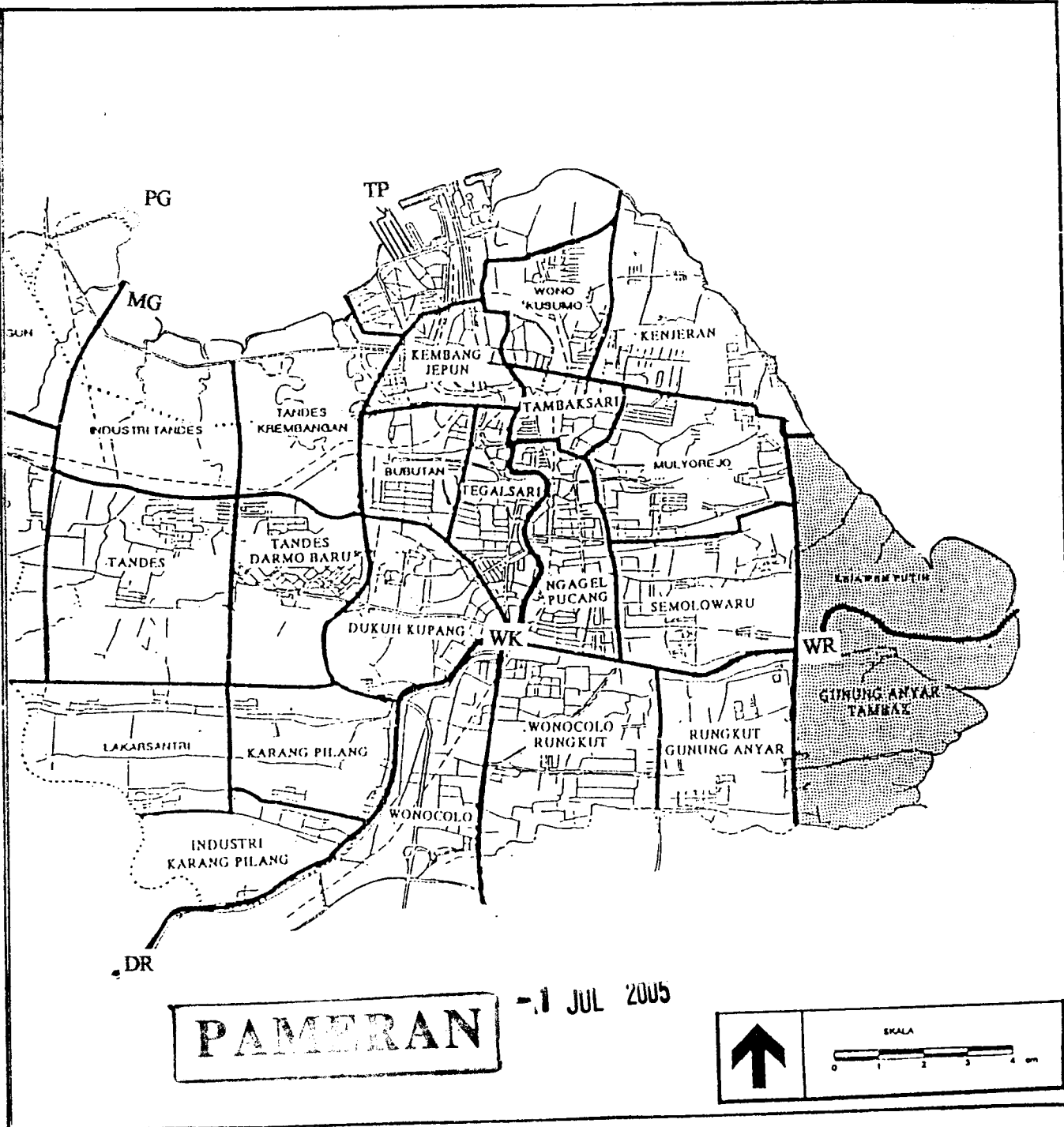


(A) Pelabuhan Tanjung Perak Surabaya



(B) Penambangan perahu di Wonorejo (kanal Kali Wonokromo) Surabaya

LAMPIRAN 5. Peta lokasi sampling di kawasan perairan pantai Surabaya



Keterangan:

DR = Driyorejo
 MG = mangrove
 PG = Pelabuhan Gresik

TP = Pelabuhan Tanjung Perak
 WK = Wonokromo
 WR = Wonorejo