

## **ISOLASI DAN UJI BIODEGRADASI BAKTERI ENDOGEN TANAH TUMPAHAN OLI BEKAS DI KOTA KUPANG**

**Yuliana S. L. Welan<sup>1</sup>, Refli<sup>2</sup>, Rony S. Mauboy<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Anggota Peneliti Prodi Biologi FST Undana Kupang*

<sup>2</sup>*Staf Pengajar Prodi Biologi FST Undana Kupang*

### **ABSTRAK**

Tumpahan oli bekas ke tanah dapat mengakibatkan pencemaran lingkungan. Salah satu cara yang lebih efektif, relatif murah, dan ramah lingkungan adalah menggunakan bakteri sebagai agen biodegradasi. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri potensial pendegradasi oli bekas dan mengkaji kemampuan isolat bakteri dalam mendegradasi oli bekas. Isolat bakteri yang digunakan berasal dari sampel tanah terkontaminasi oli bekas di lokasi perbengkelan otomotif di Kota Kupang. Parameter yang digunakan adalah Pertumbuhan bakteri menggunakan pengukuran spektrofotometer dan analisis *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH) cair (gravimetri). Sebanyak 3 isolat dari 10 yang diperoleh, dipilih untuk melihat kemampuan degradasi oli bekas yaitu A1.2, B1.2, dan B3.1. Bakteri ini diaplikasikan pada media Bushnell-Hass cair dengan penambahan oli bekas 20 %. Hasil menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri tertinggi adalah isolat bakteri B3.1 dengan peningkatan nilai absorbansi sebesar 0,519 dalam 48 jam inkubasi dan isolat bakteri A1.2 memiliki kemampuan paling baik dalam meningkatkan TPH cair pada tanah terkontaminasi oli bekas dengan persentase degradasi sebesar 24,87 % dalam 14 hari inkubasi.

**Kata kunci :** *biodegradasi*, oli bekas, bakteri endogen, hidrokarbon.

### *Hasil Penelitian*

Pencemaran tanah akibat pembuangan oli bekas semakin meningkat. Oli merupakan salah satu hasil olahan minyak bumi yang dimanfaatkan sebagai pelumas mesin, peredam panas, dan sebagai pelindung dari karatnya mesin (Kurniawan, 2014). Oli bekas dihasilkan dari berbagai macam aktivitas manusia seperti kegiatan otomotif atau perbengkelan kendaraan bermotor. Pencemaran oli bekas dapat terjadi karena tidak adanya sistem yang baku mengenai pengelolaan oli bekas, terutama dari bengkel kendaraan dan otomotif (Surtikanti dan Surakusumah, 2004).

Oli bekas dikategorikan sebagai limbah bahan berbahaya dan beracun (B3) (Pitrandjalisari, 2009). Oli bekas mengandung logam berat (besi, timah, kadmium, mangan) atau senyawa yang bersifat toksik seperti: *poly chlorinated biphenyls* (PCBs) dan *polycyclic aromatic hydrocarbons* (PAHs) yaitu hidrokarbon dengan panjang rantai karbon kurang dari 9 yang sulit diurai. Sehingga, logam dan senyawa ini dapat menimbulkan pencemaran saat terlepas ke lingkungan termasuk tanah yang merupakan tempat berkembangbiaknya makhluk hidup. Pencemaran oli bekas dapat diatasi dengan metode kimia dan fisika. Kedua metode ini memerlukan biaya yang tinggi (Pertiwi *et al.*, 2011). Oleh karena itu diperlukan metode alternatif yang lebih efektif, efisien, dan ramah lingkungan untuk mengatasi pencemaran yaitu metode bioremediasi.

Bioremediasi adalah proses rehabilitasi lingkungan tercemar dengan menggunakan mikroorganisme seperti bakteri (Andrew *et al.*, 2004).

Secara umum biodegradasi oleh mikroba dapat terjadi bila terjadi transformasi struktur di dalam senyawa sehingga terjadi perubahan integritas molekularnya. Proses ini berupa rangkaian reaksi kimia enzimatik yang memerlukan kondisi lingkungan sesuai dengan pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroba (Sheehan, 1955).

Bakteri yang mampu mendegradasi senyawa hidrokarbon disebut bakteri hidrokarbonoklastik. Bakteri hidrokarbonoklastik memiliki jumlah populasi yang sangat tinggi di tanah (Charlena, 2010). Bakteri yang mampu mendegradasi hidrokarbon minyak bumi adalah bakteri yang mampu memanfaatkan senyawa hidrokarbon sebagai sumber karbon untuk menunjang metabolismenya sehingga bakteri ini mampu menjalankan perannya di lingkungan tersebut. Bakteri pendegradasi minyak bumi dapat diisolasi dari lingkungan yang telah lama terdedah minyak bumi, seperti tanah yang tercemar minyak bumi (Anna *et al.*, 2003).

Isolat bakteri yang memiliki kemampuan dalam mendegradasi telah ditemukan diantaranya *Providencia vermicola*, *Burkholderia cepacia*, *Myroides odoratimimus*, *Azotobacter* sp., *Alcaligenes* sp., *Chromobacterium* sp., *Planococcus* sp., dan *Micrococcus* sp. Sudrajat (2015) melaporkan bahwa *Pseudomonas* sp. mampu menurunkan *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH) minyak bumi sebesar 67%, *Bacillus* sp. menurunkan TPH sebesar 61%, dan *Bacillus cereus* menurunkan TPH sebesar 54% selama 30 hari inkubasi.

Bakteri yang mampu mendegradasi hidrokarbon dari lingkungan yang tercemar oli bekas dari lokasi perbengkelan di Kota Kupang telah dilaporkan Yasin (2018).

Namun, penelitian tersebut dilakukan dengan pengambilan sampel secara non komposit sehingga bakteri yang berhasil ditemukan merupakan bakteri aerob dan didasarkan pada karakter morfologi saja. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji kemampuan isolat bakteri endogen tanah tumpahan oli bekas di Kota Kupang yang diisolasi secara komposit dalam mendegradasi oli bekas.

## MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni – Agustus 2018 di Laboratorium Biologi FST, Biologi FKIP, dan laboratorium Biosains, Universitas Nusa Cendana. Data yang didapatkan dianalisis secara deskriptif.

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain pipa yang berdiameter 3 cm untuk pengambilan sampel tanah, cawan petri, botol kaca, pembakar spritus, jarum ose, spatula, tabung reaksi, labu Erlenmeyer, gelas ukur, gelas piala, pipet volumetric, inkubator, *shaker incubator*, mikroskop cahaya, kaca preparat, spektrofotometer, sentrifuge, timbangan analitik, autoklaf, vortex, *hot plate*, pH meter, *freezer*, sarung tangan, masker, sendok steril, gunting, dan kamera digital.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain tanah yang tertumpah oli bekas, medium *Bushnell-Hass* cair, medium *Bushnell-Hass* agar, dan medium *yeast extract* untuk stok kultur.

## Prosedur kerja

### a. Pengambilan Sampel

Sampel tanah diambil secara komposit (sampel tanah diambil dari beberapa sub tanah) dari tanah tumpahan oli bekas pada dua lokasi perbengkelan otomotif di Kota Kupang. Lokasi pengambilan sampel telah tercemar oli sekitar 5 – 20 tahun. Sampel tanah yang diambil dengan kriteria diantaranya berminyak, hitam dan berbau oli yang menyengat.

### b. Isolasi dan Seleksi Isolat Bakteri

Diambil 10 g sampel tanah, dilakukan pengenceran bertingkat sampai  $10^{-3}$ . Setelah itu, diambil 1 ml hasil pengenceran dengan menggunakan pipet untuk diinokulasikan dalam 50 ml media *Bushnell-Hass* cair yang ditambah 10 ml oli bekas dan diinkubasi pada *shaker incubator* dengan kecepatan 120 rpm pada suhu ruang selama 7 hari. Isolat yang tumbuh kemudian diambil sebanyak 1 ml ditanam pada media *Bushnell-Hass* agar pada cawan petri dengan metode tuang. Permukaan agar dilapisi 200  $\mu$ l oli bekas dan media diinkubasi pada suhu 37  $^{\circ}$ C selama 3 – 4 hari koloni. Koloni yang tumbuh pada cawan petri kemudian dimurnikan pada media *Bushnell-Hass* agar dengan teknik gores. Seleksi bakteri dilakukan berdasarkan pengamatan karakter morfologi dengan mengamati bentuk, elevasi, warna, dan tepian koloni dan karakter biokimia dengan uji pewarnaan gram dan uji katalase.

### c. Pengukuran Pertumbuhan Bakteri

Isolat yang telah dimurnikan diremajakan terlebih dahulu pada media *Bushnell-Hass* agar dan diinkubasi selama 72 jam.

*Hasil Penelitian*

Kemudian, Masing-masing isolat diambil sebanyak 2 – 3 ose biakan kemudian dimasukkan dalam 20 ml media *Bushnell-Hass* cair yang mengandung 20% oli bekas. Kultur diinkubasi pada 30 °C yang digoyang di atas *shaker* dengan kecepatan 120 rpm selama 48 jam. Perlakuan ini dibuat ulangan sebanyak tiga kali dan satu kontrol. Kekeruhan media diukur pada panjang gelombang 600nm menggunakan spektrofotometer selama inkubasi untuk melihat intensitas pertumbuhan mikroba (Yani dan Akbar, 2010).

**d. Pengukuran Total Petroleum Hydrocarbon (TPH) cair**

Setiap isolat murni diambil sebanyak 2 – 3 ose biakan kemudian dimasukkan ke dalam 40 ml media *Bushnell-Hass* cair yang mengandung 20% oli bekas. Kultur diinkubasi diatas *shaker incubator* pada suhu 30 °C dengan kecepatan 120 rpm selama 7 – 14 hari.

Pada setiap minggunya dilakukan pengukuran TPH. Perlakuan dibuatkan 3 ulangan. Setelah fermentasi berlangsung selama 7 hari dan 14 hari, sebanyak 10 ml larutan ditambahkan 9 ml chloroform : 3 ml methanol untuk mengekstrak oli bekas yang tersisa. Campuran pelarut dan media divortek, dan didiamkan selama dua jam pada suhu kamar, untuk memisahkan solven yang mengandung oli bekas dan air. Air yang terpisah kemudian dibuang, sedangkan solven yang mengandung oli bekas ditimbang (bobot oli awal). Kemudian dipindahkan ke tabung sentrifuge dan disentrifuge pada 3500 rpm, selama 10 menit pada temperatur kamar.

Solven kemudian diuapkan selama tiga hari, sedangkan oli bekas yang tersisa ditimbang (bobot oli akhir). Total hidrokarbon yang didegradasi oleh bakteri dihitung menggunakan rumus:

$$TPH (\% b/v) = \frac{\text{berat minyak awal} - \text{berat minyak akhir (g)}}{\text{volume sampel (ml)}} \times 100 \%$$

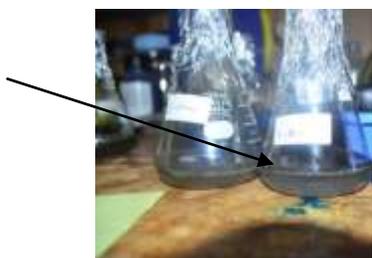
$$\text{Persentase degradasi} = \frac{TPH \text{ akhir} - TPH \text{ awal}}{TPH \text{ awal}} \times 100 \%$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Isolasi dan Seleksi Isolat Bakteri Endogen

Isolasi dan seleksi dilakukan berdasarkan kemampuan bakteri tumbuh pada media *Bushnell-Hass* yang mengandung oli bekas sebagai sumber karbon. Dari 10 isolat yang tumbuh pada media *Bushnell-Hass* cair (Tabel 1), sebanyak 3 isolat terbaik pendegradasi hidrokarbon oli bekas yang berhasil diseleksi berdasarkan karakter morfologi dan biokimia (Tabel 3).

Indikasi tumbuhnya bakteri pendegradasi oli bekas pada media *Bushnell-Hass* cair ditandai dengan warna media yang positif berkeruh setelah 7 hari inkubasi (Gambar 1) dan (Tabel 1). Pertumbuhan/pembelahan sel dapat terjadi karena bakteri menggunakan oli bekas dalam media sebagai sumber karbonnya (Ahmad *et al.*, 2012).



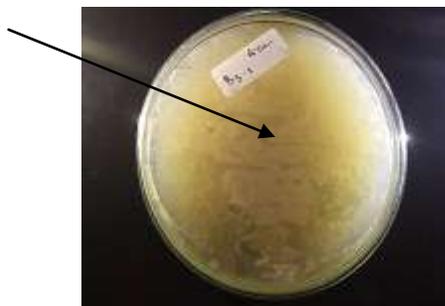
Gambar 1. Isolat bakteri endogen tanah dalam medium *Bushnell-Hass* cair setelah inkubasi (yang diberi tanda panah)

Tabel 1. Hasil isolasi bakteri endogen tanah tumpahan oli bekas

Sampel	Sumber isolat	Pertumbuhan sel dalam media <i>Bushnell Hass</i> cair
Isolat A1.1	Citra Motor Oesapa 1 – 3 cm	+
Isolat A1.2	Citra Motor Oesapa 1 – 3 cm	+
Isolat A2.1	Citra Motor Oesapa 30 – 35 cm	+
Isolat A2.2	Citra Motor Oesapa 30 – 35 cm	+
Isolat B1.1	Rikki Motor Oebufu 1 – 3 cm	+
Isolat B1.2	Rikki Motor Oebufu 1 – 3 cm	+
Isolat B2.1	Rikki Motor Oebufu 30 – 35 cm	+
Isolat B2.2	Rikki Motor Oebufu 30 – 35 cm	+
Isolat B3.1	Rikki Motor Oebufu 60 – 65 cm	+
Isolat B3.2	Rikki Motor Oebufu 60 – 65 cm	+

**Karakterisasi morfologi**

Sebanyak lima isolat bakteri endogen tanah telah diperoleh berdasarkan persamaan dan perbedaan karakter morfologi (Gambar 2) dan (Tabel 2).



Gambar 2. Koloni bakteri potensial pendegradasi oli bekas (B3.1 = isolat asal Oebufu) yang tumbuh baik pada media selektif *Bushnell-Hass* agar (yang diberi tanda panah)

Indikasi tumbuhnya bakteri pendegradasi oli bekas pada media Bushnell-Hass agar ditandai dengan tumbuhnya koloni berwarna putih susu mengelompok setelah diinkubasi (Gambar 2).

**Karakterisasi biokimia**

**1. Pewarnaan Gram**

Hasil pewarnaan gram pada setiap bakteri endogen tanah tumpahan oli bekas menunjukkan sifat gram positif yang ditandai dengan sel berwarna ungu. Hal ini mengindikasikan bakteri memiliki dinding sel yang tebal yang tersusun atas peptidoglikan yang banyak. Ketika lingkungan dalam kondisi ekstrim maka bakteri akan menyesuaikan diri dengan lingkungan tersebut. Salah satu cara yaitu dengan menebalkan dinding selnya untuk mencegah masuknya zat-zat yang dapat membunuh selnya sendiri. Umumnya bakteri pendegradasi minyak bumi adalah bakteri yang tergolong gram positif, yang memiliki dinding sel tebal. Sehingga mencegah masuknya senyawa kimia yang akan meracuni dan membunuh sel bakteri tersebut (Gambar 3).

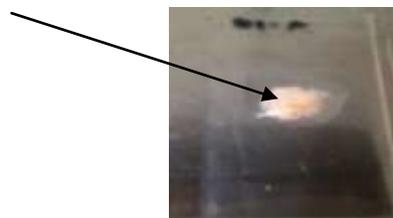
Tabel 2. Hasil Uji Morfologi isolate bakteri endogen tanah tumpahan oli bekas

Isolat	a	Bentuk	Warna	Elevasi	Tepian
	b				
Isolat A1.1	e	bulat	putih susu	datar	rata
Isolat A1.2	1	bulat	putih susu	timbul	bergelombang
Isolat B1.1		bulat	putih susu	datar	rata
Isolat B1.2	2	tidak beraturan	putih susu	datar	berlekuk
Isolat B3.1		tidak beraturan	putih susu	datar	bergelombang

*Hasil Penelitian*



Gambar 3. Hasil pewarnaan gram positif isolat bakteri endogen tanah (isolat B3.1) dengan pembesaran 1000x (yang diberi tanda panah)



Gambar 4. Gelembung-gelembung udara hasil uji katalase (positif katalase) isolat bakteri endogen tanah tumpahan oli bekas (isolat B1.2 yang diberi tanda panah)

**2. Uji Katalase**

Hasil uji katalase menunjukkan setiap isolat bakteri endogen tanah tumpahan oli bekas bersifat positif yang ditandai dengan adanya gelembung gas pada preparat (Gambar 4). Hal ini mengindikasikan bahwa isolat tersebut mampu menghidrolisis peroksida dengan enzim katalase. Locke *et al.*, (2013) menyatakan hidrogen peroksida bersifat toksik terhadap sel karena bahan ini dapat menginaktivasi enzim dalam sel. Sehingga proses biodegradasi tidak dapat terjadi. Uji katalase penting dilakukan untuk mengetahui sifat bakteri terhadap kebutuhan akan oksigen. Umumnya mikroorganisme pendegradasi minyak bumi bersifat aerob dan anaerob fakultatif (Jordan dan Payne, 1980).

Berdasarkan sifat morfologi (Tabel 2) dan sifat biokimia (Tabel 3) diduga Ketiga isolat bakteri endogen tanah kemungkinan masuk ke genus *Bacillus*. Hal ini sejalan dengan pernyataan Pelczar dan Chan (1986) bahwa bakteri kelompok *Bacillus* memiliki ciri-ciri : bakteri umumnya berbentuk batang atau bulat memanjang, bersifat positif dengan uji katalase, dan gram positif. Umumnya bakteri yang termasuk genus *Bacillus* bersifat aerob atau anaerob fakultatif. *Bacillus* merupakan perwakilan dari bakteri gram positif yang terdapat di alam (tanah, air, dan udara).

Tabel 3. Karakteristik isolat bakteri endogen tanah tumpahan oli bekas berdasarkan pengamatan morfologi dan biokimia

Kode isolat	Morfologi sel bakteri			Kelompok bakteri
	Bentuk Sel	Uji Gram	Uji Katalase	
Isolat A1.2	basil	+	+	aerob
Isolat B1.2	basil	+	+	aerob
Isolat B3.1	basil	+	+	anaerob fakultatif

## Hasil Penelitian

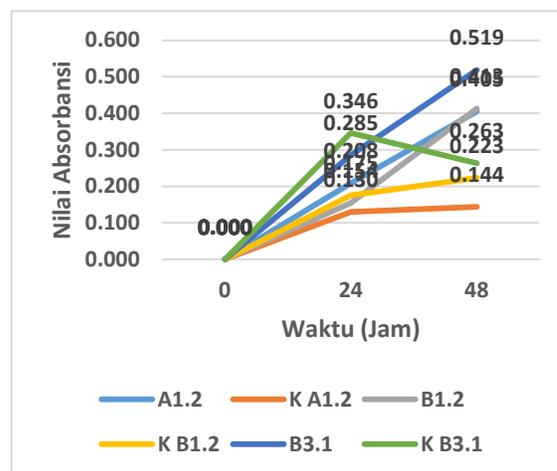
Pikoli *et al.* (2000) melaporkan beberapa jenis bakteri dari genus *Bacillus* mampu mendegradasi limbah minyak bumi antara lain *Bacillus polyxima*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus stearothermophyllus*, *Bacillus brevis*, dan *Bacillus coagulans*. Ketiga isolat bakteri dari kemungkinan berbeda dalam tingkat spesies.

### 3. Uji Kemampuan Bakteri Mendegradasi Hidrokarbon oli bekas

#### a. Pengukuran Pertumbuhan Isolat Bakteri

Kemampuan bakteri dalam mendegradasi hidrokarbon oli bekas dapat diketahui dengan melihat pertumbuhannya pada media uji cair yang diberi penambahan oli bekas. Intensitas pertumbuhan mikroba dalam media cair dianalisis berdasarkan tingkat kekeruhan menggunakan metode spektrofotometri (Gambar 5).

Degradasi hidrokarbon minyak bumi dapat diduga dengan mengetahui pengurangan atau penambahan jumlah sel mikroba tiap satuan waktu (Nugroho, 2006). Kultur bakteri B3.1 memiliki nilai absorbansi paling tinggi dibandingkan dengan kedua isolat lain yang diujikan (Gambar 5). Selang 24 jam dimulai inkubasi, kultur bakteri B3.1 mengalami peningkatan absorbansi sebesar 0,285. Nilai absorbansi kultur bakteri B3.1 meningkat menjadi 0,519 setelah 48 jam inkubasi.



Gambar 5. Hasil pengukuran pertumbuhan isolat-isolat bakteri endogen tanah menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm.

Nilai absorbansi menunjukkan konsentrasi sel bakteri dalam media cair. Nilai absorbansi pada ketiga kultur yang berbeda menunjukkan aktivitas perbanyakkan sel tiap bakteri berbeda. Pertumbuhan sel bakteri yang bervariasi, dipengaruhi oleh jenis bakteri, faktor nutrisi yang terkandung dalam media tumbuhnya, dan proses adaptasi bakteri yang berbeda-beda. Bakteri akan menunjukkan perbedaan pola pertumbuhan, periode waktu yang dibutuhkan untuk tumbuh maupun beradaptasi, dan metabolit yang dihasilkan (Yuliana, 2008). Panjang pendeknya waktu adaptasi sangat ditentukan oleh jumlah sel yang diinokulasikan, kondisi fisiologis dan morfologi yang sesuai, serta media kultivasi Scragg (1991).

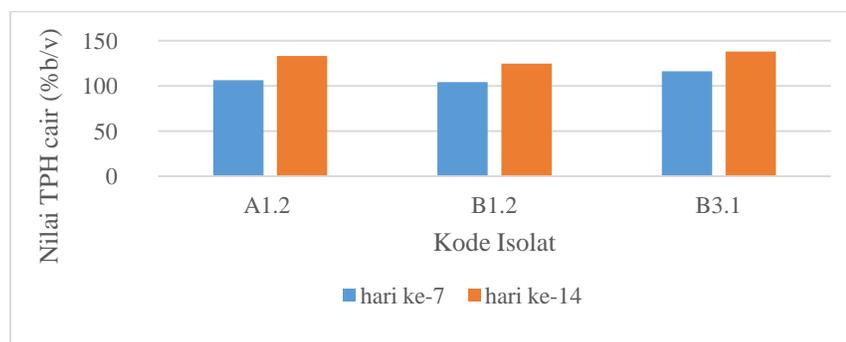
Hasil Penelitian

Kelompok bakteri pendegradasi membentuk pola pertumbuhan berfluktuasi. Fluktuasi ini terjadi sebagai akibat suksesi dalam ekosistem (Nugroho, 2006).

Nasikhin *et al.*, (2013) melaporkan bahwa pengukuran pertumbuhan bakteri yang diisolasi dari perairan pelabuhan Gresik dengan penambahan 20 ml solar dan 20 ml bensin menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm selama 7 hari. Dimana kedua isolat bakteri ini terus meningkat setelah 24 jam inkubasi.

**b. Pengukuran Total Petroleum Hydrocarbon (TPH) Cair**

Parameter yang digunakan dalam proses biodegradasi limbah minyak bumi adalah Total Petroleum Hydrocarbon (TPH). Keberhasilan suatu proses biodegradasi limbah minyak bumi ditentukan berdasarkan kandungan akhir dari kadar minyak bumi/TPH. TPH cair dapat juga dijadikan tolak ukur dalam degradasi limbah minyak bumi. Semakin tinggi nilai TPH cair oli bekas menunjukkan semakin terdispersinya oli ke dalam air, yang memudahkan bakteri untuk mendegradasi (Gambar 6) dan (Gambar 7).



Gambar 6. Hasil pengukuran nilai Total Petroleum Hidrokarbon (TPH %b/v) ketiga isolat bakteri endogen tanah selama 7 dan 14 hari inkubasi secara gravimetri



Gambar 7. Selisih persentase biodegradasi ketiga isolat bakteri endogen selama 7 dan 14 hari inkubasi

### *Hasil Penelitian*

Peningkatan kadar TPH cair tertinggi adalah kultur bakteri B3.1 (Gambar 6) dan persentase biodegradasi tertinggi adalah kultur bakteri A1.2 (Gambar 7). Persentase biodegradasi menggambarkan selisih nilai TPH dibandingkan dengan TPH awalnya. Walaupun isolat B3.1 memiliki peningkatan nilai TPH cair paling tinggi, namun persentase degradasinya rendah. Dengan persentase biodegradasi tertinggi isolat A1.2 merupakan bakteri yang lebih efisien dalam mendegradasi hidrokarbon oli bekas. Kadar TPH cair ketiga isolat bakteri terus meningkat selama masa inkubasi (Gambar 6). Meningkatnya TPH cair adalah indikasi berperannya bakteri dalam merombak senyawa hidrokarbon oli bekas yang terkandung dalam media, dimana limbah minyak berat dalam hal ini oli bekas yang terdispersi ke dalam air menyebabkan kandungan minyak di dalamnya keluar, sehingga TPH cair menjadi meningkat dan memudahkan bakteri untuk mendegradasi (US EPA 1999). Menurut Atlas dan Bartha (1992) kultur bakteri yang mengalami aktivitas perombakan disebabkan oleh enzim *membrane-bound oxygenase* yang dikeluarkan oleh bakteri untuk meningkatkan kontak secara langsung antara minyak dan bakteri sehingga bakteri dapat mengkalisis hidrokarbon oli bekas dan memanfaatkan oli bekas tersebut sebagai sumber karbon.

Hasil ini serupa dengan penelitian yang dilakukan Basuki (2011) yaitu biodegradasi oli bekas oleh *Lycinibacillus sphaericus* TCP C2.1, dimana penambahan 10% oli bekas dalam media berhasil didegradasi oleh bakteri tersebut. Januar (2013) membuktikan bahwa isolat yang diisolasi dari instalasi pengolahan minyak bumi di Kabupaten Landak mampu mendegradasi minyak yang ditambahkan dalam media (10%).

## **PENUTUP**

### **Simpulan**

1. Sebanyak tiga isolat berhasil diperoleh dari Perbengkelan Citra Motor Oesapa dan Perbengkelan Rikki Motor Oebufu yang berpotensi sebagai pendegradasi oli bekas.
2. Pertumbuhan isolat bakteri endogen tanah terbaik adalah isolat bakteri B3.1 yaitu isolat bakteri endogen tanah tumpahan oli bekas yang berasal dari Perbengkelan Rikki Motor Oebufu dengan kedalaman sampel tanah 60 – 65 cm.
3. Persentasi degradasi terbaik adalah isolat A1.2 yaitu isolat bakteri endogen tanah tumpahan oli bekas yang berasal dari Perbengkelan Citra Motor Oesapa dengan kedalaman sampel tanah 1 – 3 cm.

### **Saran**

1. Perlu dilakukan identifikasi lanjutan sampai tingkat spesies terhadap ke tiga isolat untuk memastikan jenis dari isolat tersebut.

2. Adanya perlakuan waktu inkubasi yang lebih lama untuk mengetahui tingkat pertumbuhan bakteri dan biodegradasi hidrokarbon oli bekas.
3. Perlu dilakukan pengujian tingkat biodegradasi terhadap perbengkelan-perbengkelan lainnya di Kota Kupang.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, WA, Ahmad, WYW., dan Zakaria, ZA. 2012. *Application of bacterial pigments as colorant*. Mol Sci: 25-44.
- Andrews, J.E., P. Brimblecombe, L.D. Jickells, P.S. Liss, dan B. Reid. 2004. *An Introduction to Environmental Chemistry*, 2nd edition. Blackwell Publishing, Oxford. UK.
- Anna. I., R.C. Rita., Nurhariyati T. 2003. *Isolation Of Soil Bacteria For Bioremediation Of Hydrocarbon Contamination*. Inc. USA.
- Anonim. 1999. *Method 9071B, n-Hexane Extractable Material (HEM) for Sludge, Sediment, and Solid Samples*. U.S. EPA Protection Agency. Washington.
- Anonim. 2003. [KLH]. Keputusan Menteri Lingkungan Hidup Nomor 128 Tahun 2003 tentang Pengelolaan Limbah secara Biologis: Departemen Lingkungan Hidup. <http://www.proxis.com/perundangan/LH/doc/UU/KepMLH282003-biotreat%20migas.pdf> [21 juni 2009].
- Atlas, R. M dan Bartha. 1998. *Hydrocarbon Biodegradation And Oil Spill Bioremediation. Microbial Ecology*. Vol 12. Edited by K. C. Marshall. Plenum Press. New york.
- Basuki, Winoto. 2011. *Biodegradasi Limbah Oli Bekas Oleh Lysinibacillus sphaericus TCP C 2.1*. J. Teknik Lingkungan. Vol. 12 No. 2: 111-119.
- Bushnell, L.D. and H.F. Haas. 1941. *The Utilization Of Hydrocarbons By Micro-Organisms*. J. Bacteriol. 41: 653-673.
- Charlena. 2010. *Bioremediasi Tanah Tercemar Limbah Minyak Berta Menggunakan Konsorsium Bakteri*. Disertasi. IPB. Bogor.
- Januar, W., S. Khotimah dan A. Mulyadi. 2013. *Kemampuan Isolat Bakteri Pendegradasi Lipid dari Instalasi Pengolahan Limbah Cair PPKS PTPN-XIII Ngabang Kabupaten Landak*. Jurnal Protobiont 2013 Vol 2 (3): 136 – 140.
- Jordan, R. E dan J. R. Payne. 1980. *Fate and Weathering of Petroleum Spills in The Marine Environment*. Ann Arbor Science Publication, Inc. Ann Arbor. Mich.
- Kurniawan, F. H. 2014. *Pengaruh Tumpahan Bahan Bakar Minyak dan Oli Terhadap Kinerja Campuran Lataston-WC dengan Menggunakan Metode Marshall*. Jurnal Teknik Sipil dan Lingkungan 2 (3): 553-559.
- Nasikhin, R. dan Maya Shovitri. 2013. *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Solar dan Bensin dari Perairan Pelabuhan Gresik*. Jurnal Sains dan Seni Pomits. Vol. 2, No. 2. Hal. 84 – 88.
- Nugroho, A. 2006. *Biodegradasi Sludge Minyak Bumi Dalam Skala Mikrokosmos : Simulasi Sederhana Sebagai Kajian Awal Bioremediasi Land Treatment*. Makara Teknologi 10 (2): 82-89.

*Hasil Penelitian*

- Pelczar, M. J. dan Chan, E. C. S. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. UI Press. Jakarta.
- Pertiwi, S., H. Widjajanti, B. Yudono, dan H. Wahyudi. 2011. *Pemanfaatan Rumput Fimbrisylis sp. dalam Proses Bioremediasi Tanah pada Berbagai Konsentrasi Limbah Minyak Bumi*. *Jurnal Penelitian Sains* 14 (1): 57-61.
- Pikoli, M. R., Aditiawati, P. dan Astuti D. I. 2000. *Isolasi Bertahap dan Identifikasi Bakteri Thermofilik Pendegradasi Minyak Bumi dari Sumur Bangko*, *jurnal proc*, ITB. Vol. 32, No. 2, Hal. 53–58.
- Pitrandjalisari, V. 2009. *Analisis Kelayakan Investasi Penggunaan Teknologi Crude Oil System di Departemen Power Plant PT Newmont Nusa Tenggara*. *Jurnal Teknik Industri* 10 (2): 109-113.
- Scragg, A.H. 1991. *Bioreactors in Biotechnology, A practical Approach*. Ellis Horwood Limited. London.
- Shaeen EI. 1992. *Technology of Environmental Pollution Control*. Okohama: Pen Well Books Tulsa.
- Surtikanti, H., dan Surakusumah, W. 2004. *Studi Pendahuluan Tentang Peranan Tanaman dalam Proses Bioremediasi Oli Bekas dalam Tanah Tercemar*. *Ekologi dan Biodiversitas Tropika*. 2(1): 11-14.
- Yasin, M. Iqbal. 2018. *Karakteristik Morfologi dan Fisiologi Bakteri pada Tanah Tercemar Oli Lokasi Perbengkelan Otomotif di Kota Kupang*. Skripsi Sarjana Biologi, FST. Universitas Nusa Cendana. Kupang.
- Yuliana, Neti. 2008. *Kinetika Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Isolat T5 Yang Berasal dari Tempoyak*. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*. Vol 13. No. 2.