

KEMAMPUAN BAKTERI DARI EKOSISTEM AIR HITAM KALIMANTAN TENGAH DALAM MEROMBAK MINYAK BUMI DAN SOLAR

Ability of Bacteria Isolated from Black Water Ecosystem
of Central Kalimantan in Degrading of Crude Oil and Diesel Oil

Didi Saidi¹, Iswandi Anas¹, Noegroho Hadi³, Dwi Andreas Santosa^{2*}

¹ Fakultas Pertanian, Universitas Pembangunan Nasional Veteran, Yogyakarta

² Lab. Biologi Tanah, Jurusan Tanah, Fakultas Pertanian, IPB

Jl. Raya Pajajaran 1, Bogor 16144

E-mail : soilipb@indo.net.id

³ Lembaga Minyak & Gas Bumi (LEMIGAS), Jakarta

• Corresponding Author

ABSTRACT

The objective of this experiment was to evaluate the ability of bacteria strains isolated from black water ecosystem of Central Kalimantan in degrading crude oil and diesel oil. The experiment was conducted at the Laboratory of Soil Biology, Department of Soil Sciences, Faculty of Agriculture, Bogor Agricultural University (IPB). The crude oil degrading ability of bacteria was tested on a minimum liquid medium (Gurujevalakshmi dan Orial, 1989) and soil.

Six crude oil and diesel oil degrading bacteria were isolated. The bacteria were identified as *Bacillus panthotenticus* (2 strains), *B. circularis* (1 strain), *Pseudomonas diminuta* (1 strain), *P. stutzeri* (1 strain) and *Klebsiella edwardsii* (1 strain). These bacteria were able to degrade crude oil or diesel oil whether in a liquid minimum medium or in soil.

On a minimum liquid medium, after 10 days incubation, bacteria were able to degrade 20.49% of the crude oil, while in the Entisol soil, after 7 days of incubation, as high as 40.29% of crude oil was degraded and after 28 days incubation, 64.95 of crude oil had been degraded by selected bacteria.

Key words: Crude oil-diesel oil degrading bacteria. *Bacillus*, *Pseudomonas* and *Klebsiella*

PENDAHULUAN

Bioremediasi merupakan salah satu teknologi untuk merehabilitasi lingkungan termasuk tanah yang terkontaminasi oleh limbah termasuk hidrokarbon. Menurut Hess et al. (1997) untuk mendegradasi hidrokarbon secara cepat diperlukan tambahan masukan oksigen, nitrogen dan fosfor. Proses biodegradasi tergantung pada jenis mikroorganisme, jenis minyak bumi dan lingkungan tempat degradasi terjadi (Lemigas, 1995).

Kemampuan mikroorganisme dalam mendegradasi hidrokarbon telah lama diteliti terutama pada era 70-an dan 80-an dimana pada saat itu banyak lahan pertanian dijadikan tempat pembuangan minyak bumi (Bossert dan Kosson, 1997). Mikroorganisme seperti

bakteri dapat menggunakan hidrokarbon dari minyak mentah dan fraksi-fraksinya baik secara utuh maupun sebagian (Connell dan Miller, 1995). Minyak bumi dapat diuraikan oleh mikroorganisme tanah dengan cepat dan sempurna (Schlegel dan Schmidt, 1994).

Mikroorganisme yang pada umumnya berkembang di lingkungan yang terkontaminasi hidrokarbon sebagian besar adalah bakteri (Kadarwati et al., 1994) dan kapang (Yuliar, et al., 1995). Bakteri yang dominan dalam mendegradasi hidrokarbon aromatik seperti fenol, naftalin antara lain adalah *Pseudomonas* dan *Bacillus* (Alexander, 1977). Dalam penelitian ini bakteri yang didapatkan dari ekosistem air hitam sebagian besar termasuk ke dalam genus *Bacillus* dan *Pseudomonas* sedangkan yang lain adalah *Klebsiella*.

Proses degradasi minyak bumi merupakan proses perubahan bentuk suatu senyawa menjadi bentuk lain misalnya alkohol, aldehid, fenol, dan asam karboksilat dengan hasil akhir H_2O dan CO_2 (Atlas, 1981). Proses tersebut dilakukan oleh enzim-enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme tanah (Schlegel dan Schimdt, 1994). Bakteri mempunyai kemampuan yang tinggi dalam mendegradasi hidrokarbon minyak bumi sehingga sering digunakan untuk menanggulangi polutan hidrokarbon (Bertand *et al.*, 1983). Biodegradasi minyak solar juga dipengaruhi oleh ketersediaan unsur hara, oksigen, pH, suhu dan sifat tanah lainnya (Margesin dan Schinner, 1997).

Ekosistem air hitam mempunyai kandungan fenol, senyawa hidrokarbon, dan asam-asam humat yang tinggi. Mikroorganisme yang hidup pada ekosistem tersebut telah menyesuaikan diri dengan lingkungan yang ekstrim dan kemungkinan memanfaatkan berbagai bentuk senyawa hidrokarbon sebagai sumber energinya. Berdasarkan kenyataan ini, maka dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengisolasi dan menyeleksi bakteri yang mempunyai kemampuan yang tinggi dalam merombak minyak bumi dan solar dari ekosistem air hitam, Kalimantan Tengah.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah contoh berupa sedimen yang diambil dari ekosistem air hitam Kalimantan Tengah. Contoh minyak bumi diperoleh dari Pertamina daerah operasi Prabumulih, dan minyak solar dari SPBU Jl. Raya Pajajaran Bogor. Contoh tanah Entisol diambil dari Tanjung Priok, Jakarta. Media yang digunakan adalah media agar minimal (Gurujevalakshmi dan Orial, 1989). Komposisi medianya adalah: K_2HPO_4 0.5g; NH_4Cl 1.0 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.02 g; yeast extract 0.2 g; cassamino acid 0.1 g; unsur mikro 1 ml; dan Agar 20 g.

Isolasi bakteri perombak hidrokarbon dilakukan dengan cara menebarkan contoh sedimen yang telah diencerkan ke atas permukaan media dalam cawan yang berisi media minimal dengan satu-satunya sumber karbon dari minyak bumi atau solar. Biakan tersebut diinkubasi pada suhu 30°C selama 7 hari. Isolat yang dipilih adalah isolat yang mampu menurunkan pH media, meningkatkan produksi CO_2 , meningkatkan biodegradasi minyak bumi dan solar pada media minimal dengan sumber karbon satu-satunya minyak bumi atau solar sebanyak 1% (v/v). Kemampuan bakteri dalam merombak minyak bumi dan solar diurut dari kemampuan yang tertinggi dengan nilai 1 dan seterusnya, sedangkan isolat yang mempunyai kemampuan yang sama mendapat nilai yang sama. Nilai ini dijumlahkan dan dari jumlah ini dapat dipilih isolat yang unggul. Bakteri yang unggul tersebut kemudian diuji kemampuannya dalam

merombak minyak bumi dan solar pada media minimal cair dan tanah yang dicemari solar dan minyak bumi.

Bakteri yang terpilih diidentifikasi dengan berpedoman pada *Bergey Manual of Determinative Bacteriology* (Buchanan dan Gibbons, 1974). Pada pengujian ini, populasi bakteri disamakan dengan menentukan hubungan kerapatan optis suspensi bakteri dengan metode cawan hitung dan pengukuran dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 620 nm.

Bakteri yang diuji dalam penelitian ini adalah *Bacillus circulans* Ah41-Ms1; *Pseudomonas stutzeri* Pr61-Ms1, *Bacillus panthotenticus* Si191-Mb1; *Pseudomonas diminuta* Bb171-Mb2; dan *Klebsiella edwardsii* Nn311-Mb2.

Pengujian bakteri unggul pada medium cair minimal

Pengujian dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan dua faktor dan tiga ulangan.

Faktor pertama adalah jenis inokulan bakteri yang terdiri dari I_0 = tanpa inokulasi; I_A = inokulasi dengan *Bacillus circulans* Ah41-Ms1; I_B = inokulasi dengan *Pseudomonas stutzeri* Pr61-Ms1, I_C = inokulasi dengan *Bacillus panthotenticus* Si191-Mb1; I_D = inokulasi dengan *Pseudomonas diminuta* Bb171-Mb2; I_E = inokulasi dengan *Klebsiella edwardsii* Nn311-Mb2.

Faktor ke dua adalah jenis minyak bumi: M_0 = tanpa minyak bumi. M_B = Dengan minyak bumi dan M_S = Dengan minyak solar. Untuk mengetahui pengaruh perlakuan digunakan analisis ragam dengan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf uji = 0.05. Pengujian dilakukan setelah inkubasi selama 10 hari. Tolok ukur yang diamati adalah pH media, produksi CO_2 (metode jar), dan kerapatan optik pada panjang gelombang 620 nm. Populasi bakteri dihitung dengan menumbuhkannya pada cawan agar sedangkan bobot minyak yang terdegradasi ditentukan dengan metode gravimetri.

Pengujian bakteri unggul pada tanah Entisol

Pengujian dilakukan berdasarkan Rancangan Acak Lengkap dengan tiga faktor dan diulang tiga kali. **Faktor pertama** adalah jenis inokulan (I) yang terdiri dari yang terdiri dari 5 level yaitu I_0 = tanpa inokulasi; I_A = inokulasi dengan *Pseudomonas stutzeri* Pr61-Ms1, I_B = inokulasi dengan *Bacillus panthotenticus*; I_C = inokulasi dengan *Pseudomonas diminuta* Bb171-Mb2; I_D = inokulasi dengan *Bacillus panthotenticus* Si191-Mb1.

Faktor kedua adalah jenis minyak bumi yang terdiri dari : Tm = tanpa minyak; Mb = Dengan minyak bumi; Ms = Dengan minyak solar.

Faktor ketiga adalah waktu inkubasi yang terdiri dari: I = 7 hari, II = 14 hari; III = 21 hari dan IV = 28 hari.

Untuk mengetahui pengaruh perlakuan digunakan analisis ragam dengan uji lanjut DMRT pada taraf 0.05. Pengujian dilakukan terhadap pH tanah, produksi CO₂, bobot minyak dan biodegradasi minyak bumi. Pada akhir inkubasi dianalisis kadar fenol tanah dengan metode 4-aminoantipirin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi dan seleksi bakteri dari ekosistem air hitam

Hasil isolasi dan seleksi bakteri perombak minyak bumi dan solar dari ekosistem air hitam Kalimantan Tengah dapat dilihat pada Tabel 1. Dengan cara memberi skoring terhadap data pH, produksi CO₂ dan persen biodegradasi minyak bumi dan solar, maka seleksi terhadap isolat yang diperoleh dapat dilakukan.

Enam isolat terpilih diidentifikasi sebagai *Bacillus circulans* Ah41-Ms1; *Pseudomonas stutzeri* Pr61-Ms1, *Bacillus panthotenticus*; Si201-Ms1; *Pseudomonas diminuta* Bb171-Mb2; *Bacillus panthotenticus* Si191-Mb1; *Klebsiella edwardsii* Nn311-Mb2. Lemigas (1995) melaporkan bahwa bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus coagulans* telah diisolasi dari lapangan minyak Cepu, Cirebon dan Prabumulih. Kedua genus bakteri ini pun dilaporkan mempunyai kemampuan yang baik dalam mendegradasi minyak bumi.

Pengujian bakteri unggul dalam merombak minyak bumi dan solar pada media cair minimal.

Pengujian bakteri unggul dalam merombak minyak bumi pada media minimal cair didekati melalui aktifitasnya terhadap pH, CO₂, kerapatan optik, populasi bakteri, bobot minyak dan biodegradasi minyak bumi. Hasil pengujian disajikan pada Tabel 2.

Dari Tabel 2 terlihat bahwa inokulasi bakteri dapat menurunkan pH media. Penurunan tertinggi sampai pH 4.22 dicapai oleh inokulasi dengan isolat Si 201-Ms1. Produksi CO₂ tertinggi dicapai pada inokulasi dengan Pr61-Ms1. Kedua isolat tersebut juga tumbuh dengan baik. Hal ini dapat dilihat dari nilai kerapatan optik dan populasi yang tinggi. Kedua isolat tersebut juga menyebabkan kehilangan bobot minyak yang

tertinggi dengan persentase biodegradasi antara 18.69% sampai 20.49%. Dilain pihak, isolat Si191-Mb1 dan Nn311-Mb2 mempunyai kemampuan merombak minyak bumi yang rendah.

Peningkatan biodegradasi akibat inokulasi pada media minimal berkisar antara 1.11 sampai 2.82 kali lebih besar dari tanpa inokulasi (kontrol). Dengan demikian isolat Pr 61-Ms1 (*Pseudomonas stutzeri*) dan isolat Si201-Ms1 (*Bacillus panthotenticus*) merupakan isolat unggulan karena mempunyai kemampuan yang paling tinggi dalam merombak minyak bumi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa isolat yang diperoleh mempunyai kemampuan untuk mendegradasi minyak bumi yang jauh lebih tinggi dari apa yang dilaporkan oleh Udiharto (1994), yang menemukan bahwa *Pseudomonas sp* hanya mampu mendegradasi 14% minyak bumi dalam waktu 2 minggu pada media air laut.

Hasil pengujian bakteri unggul dalam merombak minyak pada tanah Entisol

Pengaruh inokulasi bakteri terhadap pH, produksi CO₂, penurunan bobot minyak bumi dan biodegradasi minyak bumi pada tanah Entisol disajikan pada Tabel 3.

Dari Tabel 3 terlihat bahwa inokulasi bakteri sangat nyata menurunkan pH, meningkatkan produksi CO₂ dan menurunkan bobot minyak. Hal ini lebih terlihat dengan jelas pada laju biodegradasi minyak bumi yang sangat nyata meningkat dengan perlakuan inokulasi. Tanpa penambahan inokulan bakteri (kontrol), sebanyak 35.62% dari minyak bumi mengalami degradasi. Dengan inokulasi bakteri, jumlah minyak bumi yang didegradasi meningkat dengan nyata dari 35.62% (kontrol) menjadi 58.19% sampai 63.64%. Persentase minyak bumi yang terdegradasi pada perlakuan inokulasi meningkat menjadi 58.19% sampai 63.64%. Walaupun tidak terdapat perbedaan kemampuan mendegradasi minyak bumi antara isolat yang diteliti, namun isolat yang paling unggul dalam merombak minyak bumi pada tanah Entisol adalah isolat Pr61-Ms1 (*Pseudomonas stutzeri*).

Pengaruh waktu inkubasi terhadap pH, produksi CO₂, bobot minyak dan biodegradasi minyak

Pengaruh waktu inkubasi terhadap pH, produksi CO₂, bobot minyak dan persentase biodegradasi minyak bumi disajikan pada Tabel 4. Dari Tabel 4 dapat dilihat bahwa waktu inkubasi berpengaruh terhadap pH, produksi CO₂, dan penurunan bobot minyak bumi.

Tabel 1. Isolasi dan seleksi bakteri perombak minyak bumi dan solar pada media minimal dari sampel sedimen ekosistem air hitam, Kalimantan Tengah

No	Isolat	Ph		CO ₂ (mg/l/hari)		Biodegradasi (%)		Skor	
		Nilai	Skor	Nilai	Skor	Nilai	Skor	Total	Catatan
Minyak bumi	K.Mb	6.50	8	0	11	4.82	10	29	
	Ah36-Mb1	4.50	5	1.71	9	8.72	8	22	
	Bb166-Mb2	5.00	6	4.28	6	21.92	2	14	
	Bb171-Mb2	3.50	2	7.28	2	12.73	5	9	
	Bb171-Mb3	4.25	4	6.86	3	11.24	7	14	
	Si1 91-Mb1	4.00	3	8.15	1	24.87	1	5	
	Si201-Mb4	4.25	4	3.43	7	1.31	11	22	
	Bg236-Mb1	5.00	6	4.29	5	16.00	4	15	
	Bg236-Mb2	5.00	6	2.57	8	8.43	9	23	
	Nn311-Mb2	3.00	1	6.43	4	12.39	6	11	
	Om346-Mb1	6.00	7	0.85	10	20.94	3	20	
Minyak solar	K.Ms	6.50	8	0	11	4.53	11	30	
	Ah36-Ms2	5.75	7	0.85	10	8.72	7	24	
	Ah41-Ms1	2.50	1	9.85	2	17.15	3	6	
	Pr56-Ms2	4.50	4	6.43	4	9.87	6	14	
	Pr56-Ms1	2.75	2	10.30	1	18.24	2	5	
	Pr106-Ms2	4.50	4	4.71	8	4.71	10	22	
	Pb136-Ms1	4.00	3	5.57	6	6.25	8	17	
	Si201-Ms1	2.75	2	6.85	3	24.73	1	6	
	B1221-Ms4	2.50	1	5.99	5	13.54	5	11	
	Db257-Ms1	5.00	6	5.14	7	13.88	4	17	
	Db377-Ms2	4.75	5		9	4.88	9	23	

Keterangan: Ah = S. Ahas; Bb = D. Bunter Besar; Si = Saluran Induk; Bg = D. Naning; Om = Saluran Outlet Mengkatip; Pr = S. Purun; Pb = D. Panjang Besar; B1 = D. Balida; K = Kontrol; Mb = Minyak bumi; Ms = Minyak solar. Total skor terendah berarti unggul.

Tabel 2. Pengujian bakteri unggul terhadap kemampuan mendegradasi minyak bumi pada media minimal cair setelah diinkubasi selama 10 hari

Kode Isolat	pH	CO ₂ (mg/l/hari)	Kerapatan Optik	Populasi (SPK/ml)	Bobot Minyak (mg)	Biodegradasi (%)
Kontrol	6.28a	4.13c	0.083d	2.48e	110.7a	7.26c
Ah41-Ms1	4.22b	5.47bc	0.151b	24.26b	102.4ab	13.27ab
Pr61-Ms1	4.55b	10.27a	0.216a	39.94a	96.0bc	18.69a
Si201-Ms1	4.00b	9.97a	0.225a	17.59c	93.7c	20.49a
Bb171-Mb2	4.39b	6.67b	0.164b	8.85d	103.3ab	12.34bc
Si191-Mb1	4.33b	8.40a	0.125c	8.41d	106.1a	8.16c
Nn311-Mb2	4.56b	6.27b	0.107c	3.61e	107.3a	8.09c

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada DMRT 0.05

Hal ini dapat dilihat dari peningkatan persentase minyak bumi yang mengalami biodegradasi. Pada 7 hari inkubasi, baru sekitar 40.29% minyak bumi yang terdegradasi, sedangkan setelah 14 minggu, jumlah minyak bumi yang terdegradasi sudah mencapai 56.59%. Pada periode inkubasi selanjutnya (21 hari) persentase minyak bumi yang mengalami

biodegradasi meningkat menjadi 63.95%. Namun setelah itu, jumlah minyak bumi yang mengalami biodegradasi tidak berbeda lagi dengan inkubasi 21 hari. Hal ini sejalan dengan data produksi CO₂ yang menunjukkan penurunan sejalan dengan lamanya waktu inkubasi.

Pengaruh jenis minyak terhadap pH, produksi CO₂, bobot minyak dan biodegradasi minyak bumi

Pengaruh jenis minyak terhadap pH, produksi CO₂, bobot minyak dan persentase degradasi minyak bumi disajikan pada Tabel 5. Dari Tabel 5 dapat dilihat bahwa kemampuan bakteri dalam merombak minyak sangat tergantung pada jenis minyaknya. Penurunan pH tertinggi dicapai pada solar, demikian juga produksi CO₂. Bobot minyak yang hilang juga lebih banyak pada minyak solar dibandingkan dengan minyak bumi. Persentase biodegradasi minyak bumi mencapai 47.79 % yang nyata lebih rendah dibanding dengan persentase minyak solar yang terdegradasi pada waktu inkubasi yang sama (64.71%).

Pengaruh inokulasi bakteri terhadap kadar fenol dalam tanah Entisol

Fenol merupakan senyawa yang bersifat toksik dan mudah larut dalam air sehingga senyawa tersebut mudah menimbulkan pencemaran di lingkungan. Fenol yang terdapat dalam minyak bumi dan solar akan mengalami perombakan oleh bakteri tanah. Dengan demikian, inokulasi dengan bakteri tanah

terpilih diharapkan akan meningkatkan jumlah fenol yang dirombak. Pengaruh inokulasi bakteri terhadap kadar fenol dalam tanah Entisol setelah inkubasi 28 hari disajikan pada Tabel 6.

Data pada Tabel 6 menunjukkan bahwa bakteri yang diinokulasi dapat menurunkan kadar fenol dalam tanah Entisol yang ditambahkan minyak bumi ataupun minyak solar. Penurunan kadar fenol tertinggi pada tanah Entisol dengan minyak bumi dijumpai pada inokulasi dengan isolat Pr61-Ms1 sedangkan pada minyak solar penurunan tertinggi kandungan fenol terjadi pada inokulasi dengan isolat Bb171-Mb2. Penurunan kadar fenol minyak bumi dari 19.222 mg/l pada perlakuan kontrol turun menjadi 0.358 mg/l pada perlakuan inokulasi dengan isolat Pr61-Ms1. Pada minyak solar penurunan kadar fenol juga sangat jelas dari 1.163 mg/l tanpa inokulasi menjadi 0.358 mg/l pada perlakuan inokulasi dengan strain Pr61-Ms1. Isolat Pr61-Ms1 adalah *Pseudomonas stutzeri*. Hal ini ditunjang oleh hasil penelitian Udiharto (1989) juga menyatakan bahwa *Pseudomonas sp* dapat menurunkan konsentrasi fenol sebesar 99.9% dari konsentrasi semula selama 6 jam inkubasi.

Tabel 3. Pengaruh inokulasi terhadap pH, produksi CO₂, bobot minyak bumi dan biodegradasi minyak bumi pada tanah Entisol setelah 28 hari inkubasi

Isolat	PH	CO ₂ (mg/kg/hari)	Bobot minyak (mg)	Laju Biodegradasi (%)
Kontrol	6.25a	10.78c	70.77a	35.62c
Pr61-Ms1	5.92b	13.41ab	38.08b	63.64a
Si201-Ms1	6.03ab	14.28a	48.40b	58.19ab
Bb171-Mb2	5.94b	12.99b	50.35b	60.85ab
Si191-Ms1	5.98b	12.48b	40.71b	62.93a

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf DMRT 0.05

Tabel 4. Pengaruh waktu inkubasi terhadap pH, produksi CO₂, bobot minyak dan biodegradasi minyak bumi

Waktu inkubasi (hari)	PH	CO ₂ (mg/kg/hari)	Bobot minyak (mg)	Laju Biodegradasi (%)
7	6.18a	22.98a	65.91a	40.29c
14	6.17ab	15.47b	46.82b	56.59b
21	5.96bc	8.80c	45.43b	63.95a
28	5.78c	3.91d	41.48b	64.95a

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf DMRT 0.05

Tabel 5. Pengaruh jenis minyak terhadap pH, produksi CO₂, penurunan bobot minyak dan persentase biodegradasi

Jenis minyak	pH	CO ₂ (mg/kg/hari)	Bobot minyak (mg)	Laju Biodegradasi (%)
Tanpa minyak	6.28a	9.02c	-	-
Minyak bumi	5.94b	13.96b	54.38b	47.79b
Minyak solar	5.85b	15.39a	27.85a	64.71a

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf DMRT 0.05

Tabel 6. Pengaruh inkulasi bakteri terhadap kadar fenol dalam tanah Entisol setelah 28 hari inkubasi

Isolat	Minyak bumi (mg fenol/l)	Minyak solar (mg fenol/l)
Kontrol	19.222	1.163
Pr61-Ms1	0.358	0.437
Si201-Ms1	0.457	0.443
Bb171-Mb2	0.417	0.388
Si191-Mb1	0.487	0.394

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini didanai dari Proyek Riset Unggulan Terpadu V dengan judul: Ekosistem Air Hitam: Biodiversitas Makro dan Mikro, Isolasi DNA *in situ*, dan Kloning *Shotgun* gen Penyandi Ekstremozim, dengan peneliti utama: Dwi Andreas Santosa.

KESIMPULAN

1. Bakteri perombak minyak bumi dan solar ditemukan dari ekosistem air hitam Kalimantan Tengah. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa bakteri tersebut termasuk *Bacillus circulans* Ah41-Ms1, *Pseudomonas stutzeri* Pr61-Ms1, *Bacillus panthotenticus*; Si201-Ms1, *Pseudomonas diminuta* Bb171-Mb2, *Bacillus panthotenticus* Si191-Mb1; dan *Klebsiella edwardsii* Nn311-Mb2.
2. Inkulasi bakteri unggul tersebut pada media cair minimal dan tanah Entisol dapat menurunkan pH, bobot minyak, meningkatkan produksi CO₂, dan meningkatkan persentase degradasi minyak bumi. Isolat unggul pada media cair minimal adalah, *Bacillus panthotenticus*; Si201-Ms1

dan *Pseudomonas stutzeri* Pr61-Ms1. Isolat unggul pada tanah Entisol adalah *Pseudomonas stutzeri* Pr61-Ms1.

3. Penambahan waktu inkubasi dari 7 hari ke 14, 21 dan 28 hari dapat menurunkan pH lebih lanjut, meningkatkan produksi CO₂ dan meningkatkan persentase minyak yang didegradasi.

4. Inkulasi bakteri pada tanah Entisol yang dicemari dengan minyak bumi dan solar, setelah 28 hari inkubasi sangat nyata menurunkan kadar fenol. *Pseudomonas stutzeri* Pr61-Ms1 merupakan bakteri yang paling potensial dalam menurunkan kadar fenol.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, M. 1977. Introduction to soil microbiology. John Wiley and Sons. New York.
- Anonim. 1996. Peranan bioremediasi dalam pengelolaan lingkungan. Prosiding Pelatihan dan Lokakarya Pusat Bioteknologi LIPI, Cibinong

- Atlas, R.M. 1981. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: An Environmental persepective. *Microbiol. Rev.* 45: 180 - 209.
- Bertand, J.C., E. Rambeloarisoa, J.F. Rontaani, G. Giusti and G. Mattei. 1983. Microbial degradation of crude oil in seawater in continuous culture. *Biotech.* 5(8):567-572,
- Bossert, I. D. and D. S. Kosson. 1997. Methods for measuring hydrocarbon biodegradation in soil. In *Manual of Environmental Microbiology* ASM Press. Washington D. C.: 738-742.
- Buchanan, R.E. and N.E. Gibbons, 1974- *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Eight edition. Cambridge University Press, Cambridge.
- Connell, D. W. and G. J. Miller. 1995. Kimia dan ekotoksikologi pencemaran. UI- Press. Jakarta. 520 p.
- Gurujevalakshmi, G and P. Oriel. 1989. Isolation of phenol-degrading *Bacillus stearothermophilus* and partial characterization of the phenol hydroxylase. *App. and Environ. Microbiol.* 55 (2): 500 - 502.
- Hess, A., B. Zarda, D. Hahn, A. Haner, D. Starz, P. Hohener, and J. Zeyer. 1997. *In situ* analysis of denitrifying toluene and n-xylene degrading bacteria in a diesel fuel contaminated laboratory. *App. Environ. Microbiol.* 6: 2136-2141.
- Kadarwati, S., M. Udiharto, E.H. Legowo, E. Bagio, M. Rahman, E. Jasjfi. 1994. Aktivitas mikroba dalam transformasi substansi di lingkungan situs hidrokarbon. Lembaran publikasi Lemigas, Jakarta 2:28-38
- Lemigas. 1995. Karakteristik beberapa mikroba lapangan minyak Indonesia dalam Prospek MEOR. Kumpulan Makalah Simposium RI. Lemigas. Jakarta.
- Margesin, R. and F. Schinner 1997. Efficiency of indigenous and inoculated cold adapted soil microorganisms for biodegradation of diesel oil in Alpine soil. *App. Environ. Microbiol.* 7:2660-2664
- Schlegel, H. G and K. Schmidt. 1994. *Mikrobiologi Umum* (Terjemahan). Gajahmada University PressYogyakarta
- Udiharto, M. 1989. Fenol sebagai pencemar dan biodegasasinya. Prosiding Diskusi Ilmiah Hasil Penelitian dari PPTMGB. Lemigas. Jakarta.
- Udiharto, M. 1994. Aktivitas mikroba dalam degradasi minyak bumi. Prosiding Temu Karya Pengolahan Lemigas, Jakarta.
- Yuliar, G. Kartina dan A. Sugiarto. 1995. Inventarisasi kapang pendegradasi petroleum. Laporan Teknis. Penelitian, pengembangan, dan pendayagunaan biota Indonesia. Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi, LIPI. Bogor.