

## Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Termofilik Dari *Oil Sludge* Asal Kalimantan Timur

Mulya Fitrah Juniawan\*<sup>1</sup>, Dita Artanti<sup>2</sup>, Yuni Gayatri<sup>1</sup>, Ainutajriani<sup>3</sup>

<sup>1</sup>S1 Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Surabaya

<sup>2</sup>Diploma Tiga Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Surabaya

<sup>3</sup>Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Surabaya

Correspondence to: mulyafitrahjuniawan@um-surabaya.ac.id

### ABSTRACT

Tanggal Submit:  
17 November 2022

Tanggal Review:  
13 Maret 2023

Tanggal Publish  
Online:  
8 May 2023

*Oil sludge is a product of petroleum mining activities and causes environmental pollution. However, oil sludge, including hazardous and toxic waste materials (B3), has been less effective in reducing oil sludge pollution. Thus, the researcher solved the issue by using hydrocarbonoclastic. It is necessary to use hydrocarbonoclastic bacteria isolated directly from their habitat (indigenous bacteria) as hydrocarbon degrading agents. Therefore, this study aimed to isolate and identify indigenous thermophilic bacteria from East Kalimantan Oil sludge. This study is an observational study that is analyzed descriptively. Procedure for isolation and identification of thermophilic bacteria from oil sludge grow on Synthetic Mineral Water media (SMW) with and without an autoclave. The Microbact Identification System Kit GNB 24E was used to characterize colonies macroscopically, microscopically, Gram staining, physiological tests (catalase, coagulase, and motility tests), and biochemically. The bacteria that were successfully isolated were later identified with Microbact Software and Bergey's book Manual of Determinative Bacteriology Ninth Edition. The results of the isolation and identification of thermophilic Indigenous bacteria from Oil Sludge Kalimantan Timur found *Pseudomonas aeruginosa* species with a similarity accuracy of 98.33%. The identified bacterial isolates can later be used as bioremediation agents on soils polluted with oil sludge.*

**Keywords:** Indigenous bacteria, Oil sludge, *Pseudomonas aeruginosa*

### PENDAHULUAN

Kecamatan Muara Badak merupakan salah satu wilayah di Kalimantan Timur yang menghasilkan minyak bumi dan gas bumi (migas) di Kutai Kartanegara, dimana eksplorasi dan eksploitasi saat ini dilakukan oleh perusahaan migas multinasional asal

Amerika Serikat, VICO Indonesia. Kegiatan penyimpanan dan pemurnian bahan bakar minyak bumi akan menghasilkan lumpur minyak (Cahyani *et al.*, 2017). Polycyclic aromatic Hydrocarbon (PAHs) adalah salah satu bahan yang terkandung dalam lumpur

minyak sebagai polutan berbahaya. Kehadirannya di lingkungan dapat menyebabkan karsinogen bagi hewan dan manusia (Kurniawan *et al.*, 2018).

Lumpur minyak juga dapat ditemukan dalam mikroba asli dan senyawa hidrokarbon. Bakteri, ragi, dan jamur adalah beberapa mikroba lumpur minyak asli. Kenyataannya tidak semua mikroba memiliki kemampuan yang sama sebagai bahan pendegradasi lumpur minyak. Agen kritis yang sering digunakan dalam remediasi adalah dari kelompok bakteri. Hal ini didasarkan pada lama waktu generasi atau kecepatan pembelahan dan mudahnya memperbanyak jumlah selnya (Afianti *et al.*, 2019)

Berdasarkan penelitian Afianti *et al.* (2019), bakteri yang diisolasi dari lumpur minyak asli dapat mendegradasi fenantren, antrasena dan dibenzotiofena. Selain itu, penggunaan bakteri hidrokarbonoklastik yang diisolasi langsung dari habitatnya (bakteri asli) sebagai zat pewarna hidrokarbon dapat mempersingkat waktu bioremediasi. Sunaryanto (2017), menyebutkan bahwa banyak bakteri dapat tumbuh dengan memanfaatkan senyawa hidrokarbon sebagai sumber karbon tunggal untuk kelangsungan hidupnya. Bakteri tersebut terutama dari genus *Pseudomonas*, *Arthrobacter*,

*Aeromonas*, *Sphingomonas*, *Acidovorax*, *Burkholderia*, *Brevibacillus*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Corynebacterium*, dan *Nocardia* (Sunaryanto, 2017).

Di alam, mikroba adalah populasi campuran, bukan satu. Jadi biakan murni atau biakan perlu diperoleh melalui metode isolasi. Kultur murni yang diperoleh dari pemisahan atau penghilangan mikroba dari lingkungan asalnya dan dipupuk dalam media buatan merupakan prinsip isolasi mikroba (Mikdarullah and Nugraha, 2017).

Menurut Puspitasari *et al.* (2020), cara oles (spread-plate), tuang (pour-plate), atau gores (streak-plate) adalah beberapa cara yang dapat dilakukan dalam mengisolasi bakteri. Selain itu, pemanfaatan bakteri yang memiliki potensi dan peran dominan sebagai pendegradasi pencemaran minyak atau lemak dapat dilihat dari isolasi dan seleksi awal (Puspitasari *et al.*, 2020).

Berdasarkan gambaran umum sumber dan permasalahan di atas, bakteri Indigenous berpotensi menjadi kandidat untuk degradasi senyawa hidrokarbon pada lumpur minyak. Yuliawatin *et al.* (2017) dalam penelitiannya menyatakan bahwa empat

bakteri indigenous yang diisolasi dari lumpur minyak Dumai- Riau berpotensi menjadi agen bioremediasi limbah minyak bumi dengan produksi biosurfaktan yang ditumbuhkan pada 3 substrat yang berbeda (D-glukosa, sukrosa dan molase). Obi *et al*, (2016) dalam penelitiannya tentang isolasi dan karakterisasi bakteri indigenous dari lumpur minyak mentah diperoleh isolat dengan genus yang berbeda, antara lain *Stenotrophomonas*, *Pseudomonas*, *Bordetella*, *Brucella*, *Bacillus*, *Achromobacter*, *Ochrobactrum*, *Advenella*, *Mycobacterium*, *Mesorhizobium*, *Klebsiella*, *Pusillimonas* dan *Raoultella*. Namun, hanya isolat *Pseudomonas* yang paling mungkin menjadi pengurai lumpur minyak mentah terbaik dengan persentase degradasi 73,7% setelah 7 hari inkubasi pada 28°C. Kurniawan *et al* (2015) dalam penelitiannya menggunakan isolat bakteri indigenous yaitu: *Pseudomonas putida* AK.A dan *Pseudomonas diminuta* AK.B, dari limbah lumpur minyak juga dapat menjadi agen biodegradasi. Total Hidrokarbon Minyak Bumi berada di bawah 1% sebesar 87,4% dalam waktu satu bulan. Namun, studi tentang isolasi dan identifikasi bakteri termofilik asli dari lumpur minyak bumi di Kalimantan Timur belum pernah

dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri termofilik asli dari lumpur minyak Kalimantan Timur. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan dalam optimasi degradasi limbah lumpur minyak di wilayah Kalimantan Timur dengan penambahan bakteri indigenous.

## **METODE PENELITIAN**

### **Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga Surabaya. Waktu penelitian dilakukan pada bulan September 2021 hingga April 2022

### **Bahan dan Instrumen**

Bahan yang digunakan adalah oil sludge, Synthetic Mineral Water (SMW), Nutrient Agar (NA), 2% Molasses, media semisolid, dan Nutrient broth (NB). Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini antara lain Biosafety Cabinet, Autoclave, Microbact 2000, Mikroskop, dan Inkubator.

### **Isolasi Bakteri dari Lumpur Minyak**

Ditimbang 0,5 g lumpur minyak untuk setiap botol 250 mL. Dua botol berlabel SMW, dua botol berlabel SMW + 2% Molases, dan botol berlabel NB dengan syarat masing-masing botol

sudah di autoklaf dan belum. Mikroba yang tumbuh baik pada perlakuan kemudian tanam pada media NA dengan terlebih dahulu mengencerkan radian 10-1 sampai 10-3. selanjutnya, inkubasi dilakukan pada suhu kamar selama 24 jam. Koloni yang tumbuh dihitung dan dikelompokkan berdasarkan karakter morfologi baru yang dimurnikan pada media Nutrient Agar miring (Sari *et al.*, 2022).

### **Karakterisasi Morfologi**

#### **Morfologi Koloni**

Karakterisasi morfologi isolat bakteri berdasarkan metode yang dilakukan oleh (Pratiwi and Asri, 2022). Pengamatan morfologi dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis, karakteristik yang harus diamati dari morfologi seperti optik, permukaan, pigmentasi, bentuk, elevasi, dan margin.

#### **Morfologi Sel**

Morfologi sel bakteri dapat dilakukan dengan pewarnaan Gram (Smith and Hussey, 2005; Bhumbra, 2018). Pewarnaan gram pada bakteri dilakukan dengan mengamati sel bakteri yang telah mati dan berwarna. Uji pewarnaan mengambil biakan bakteri daristok, meletakkannya di atas kaca preparat, dan memfiksasinya di atas api bunsen. Proses pewarnaan gram dilakukan dengan pemberian

kristal violet dan didiamkan selama 1 menit, kemudian dicuci dengan aquadest. Langkah selanjutnya adalah memberikan lugol sebanyak-banyaknya dan diamkan selama 1 menit, lalu bilas dengan aquadest. Setelah itu sediaan dilunakkan selama 30 detik dengan larutan alkohol. Sediaan dicuci kembali dengan aquadest dan diwarnai dengan safranin selama 1 menit. Warna tersebut kemudian dihilangkan dan dibersihkan dengan aquadest sebelum diperiksa di bawah mikroskop. Pada hasil pewarnaan Gram akan didapatkan perbedaan warna, dan jika tampak ungu berarti bakteri tersebut Gram positif, dan jika Gram negatif menunjukkan warna merah (Smith and Hussey, 2005).

### **Uji Biokimia dan Fisiologis Bakteri Lumpur Minyak**

Uji Oksidase dilakukan dengan menggunakan cakram oksidase. Tes ini mengambil 1-2 koloni ose dengan menggunakan jarum ose aseptik kemudian digoreskan pada cakram oksidase. Hasil gores kemudian diamati munculnya warna biru pada cakram oksidase jika terjadi perubahan warna menjadi biru berarti menunjukkan hasil yang positif (Al-joda and Jasim, 2021).

Uji Katalase dilakukan dengan menggunakan pereaksi Hidrogen Peroksida ( $H_2O_2$ ). Pengujian ini dilakukan dengan cara mengambil satu

koloni mata ose menggunakan jarum ose kemudian ditempelkan pada pereaksi hidrogen peroksida. Hasilnya kemudian diamati ada tidaknya gelembung gas. Jika terjadi gas gelembung berarti menunjukkan hasil yang positif (Al-joda and Jasim, 2021).

Pengujian biokimia dilakukan dengan menggunakan Microbact Identification System Kit GNB 24E yang merupakan kombinasi pengujian dari 12A dan 12B (Titah *et al.*, 2017). Sistem kerja dari kit ini adalah isolat bakteri ditanam pada lempeng mikro (micro crucible) yang berisi substrat biokimia nantinya, hasil kemampuan menghidrolisis substrat ditunjukkan dengan adanya perubahan warna yang dapat dideteksi secara makroskopik, dan data warna yang diperoleh akan dicocokkan dengan tabel warna yang memiliki nilai tertentu (Karina, 2016). Hasil uji biokimia menggunakan software microbact sebagai bagian dari proses pengecekan data hasil (Vithanage *et al.*, 2014). Angka yang muncul merupakan hasil reaksi manual dari kit identifikasi mikroba yang direaksikan dengan suspensi bakteri yang ditetaskan pada microplate dan setelah itu peneliti masuk dengan komputer yang telah memprogram file Microbact TM Gram-Negative Identification System (Vithanage *et al.*,

2014). Data karakterisasi morfologi dan biokimia digunakan untuk menentukan nama bakteri hingga tingkat spesies yang cocok, juga berdasarkan buku Bergey The Manual Of Determinative Bacteriology Ninth Edition.

## HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

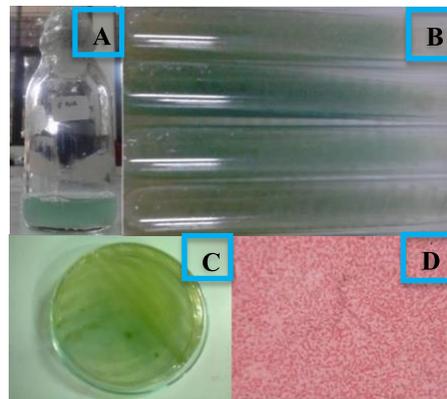
### Isolasi Bakteri indigenus dari Lumpur Minyak

Satu isolat diperoleh dari hasil isolasi bakteri indigenus oil sludge yang menjadi isolat dominan pada oil sludge. Bakteri asli yang diisolasi dari lumpur minyak didominasi oleh bakteri hijau disajikan pada Gambar 1.

Isolat tunggal yang ditemukan diberi kode isolat 1. Isolat selanjutnya akan dilakukan karakterisasi morfologi melalui pengamatan yang dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Morfologi koloni berukuran sedang hingga besar, menghasilkan pigmen ekstraseluler yang dapat larut dalam medium sehingga medium berwarna hijau, dan elemen optik berdasarkan jumlah cahaya yang melewati media. koloni meliputi transparan atau bening, bentuk bulat, peninggian rata, permukaan kasar, tepi bergerigi (Gambar 1c). Pada media cair pertumbuhan koloni nampak keruh berwarna hijau (Gambar 1a). Kemudian

pertumbuhan pada agar miring berupa sebaran tipis berwarna hijau (Gambar 1b). Morfologi sel bakteri isolat 1 yang ditemukan pada saat pewarnaan Gram

berbentuk batang, termasuk ukuran sel Gram-negatif berkisar antara 1,0- 2,0  $\mu\text{m}$ , dan tidak memiliki spora (Gambar 1d).



**Gambar 1.** Morfologi Koloni dan Sel Isolat Bakteri Indigenous Oil sludge 1.

- A) Morfologi koloni pada media cair,
- B) Morfologi koloni pada media agar miring,
- C) Morfologi koloni pada media agar plate,
- D) Morfologi sel (Dokumen pribadi dari Laboratorium Terpadu, Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga Surabaya)

Morfologi koloni dari hasil penelitian menunjukkan warna hijau dan larut dalam media sesuai dengan pernyataan Kuswiyanto (2016) yang menyatakan bahwa *Pseudomonas aeruginosa* memiliki pigmen pyocyanin (pigmen hijau), *pyoverdine* (pigmen kuning), *pyorubin* (pigmen merah), dan *pheomelanin* (pigmen coklat). Isolat bakteri yang teridentifikasi merupakan bakteri indigenus termofilik yang tahan terhadap proses pemanasan dengan menggunakan autoklaf suhu 121°C.

Karakterisasi berdasarkan morfologi bertujuan untuk mengamati isolat bakteri baik dari segi koloni maupun selnya. Pengamatan koloni bakteri dilakukan secara makroskopik

antara lain melihat bentuk, tipe koloni, permukaan koloni, dan warna koloni bakteri yang dapat dilihat oleh mata secara langsung tanpa bantuan alat (Pratiwi and Asri, 2022).

Bakteri isolat 1 yang berhasil diisolasi tergolong bakteri Gram negatif. Menurut Boleng (2017), bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel yang tipis (10-15 nm) dan berlapis tiga, namun komposisi dinding selnya tidak mengandung asam teikoat dengan lapisan lipid yang tinggi (11-22 %) dan peptidoglikan tipis (10%) dari berat kering. Oleh karena itu, lapisan lipid yang tinggi dan peptidoglikan yang tipis inilah yang menyebabkan pewarna pada reagen kristal violet tidak

dapat dipertahankan selama proses dekolorisasi (pelembutan) dengan alkohol 96% pada tahap pewarnaan.

Hasil Pewarnaan Gram juga dapat menentukan bentuk sel bakteri dan sifat Gramnya. Bentuk isolat sel bakteri isolat 1 adalah *Bacillus* (bentuk batang). Menurut Boleng (Boleng, 2017), menyatakan bahwa berdasarkan klasifikasi morfologi, bakteri memiliki bentuk *Coccus* (bulat), *Bacillus* (batang), *Vibrio* (bentuk koma), *Spirillum* (bentuk benang), dan *Spirocheta* (bentuk benang tipis bentuk yang dapat ditekuk).

### Uji Biokimia dan Fisiologis Isolat Tunggal

Hasil uji oksidase menunjukkan oksidase positif meskipun lemah (Gambar 2). Sementara itu, hasil uji katalase positif dan kuat (Gambar 3). Uji biokimia menunjukkan bahwa *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan oksidase positif. Itu menunjukkan aktivitas oksidase *Pseudomonas aeruginosa*. Enzim ini bertugas mengkatalisis suatu proses oksidasi dan reduksi elektron (Hamidah *et al.*, 2019). Uji katalase juga menunjukkan hasil positif. Uji katalase bertujuan untuk memastikan apakah isolat 1 yang teridentifikasi mengandung enzim katalase atau tidak (Hamidah *et al.*,

2019). Isolat 1 dapat memecah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen untuk dimasukkan sebagai bakteri dengan katalase positif.



**Gambar 2.** Hasil Uji Oksidase Isolat 1. A) oksidase positif dengan terbentuknya warna ungu, dan B) oksidasenegatif tidak terbentuk warna ungu



**Gambar 3.** Hasil uji katalase positif dari isolat 1

Tabel 1 menyajikan hasil uji biokimia, dan pengujian biokimia perlu dilakukan untuk mengetahui sifat fisiologis isolat bakteri. Sifat fisiologis berhubungan dengan metabolisme di dalam sel bakteri, dan setiap bakteri memiliki aktivitas biokimia yang berbeda. Oleh karena itu, uji biokimia sering digunakan sebagai salah satu parameter penelitian identifikasi bakteri hingga tingkat spesies.

**TABEL 1. Hasil Identifikasi Biokimia Isolat Bakteri 1**

<u>Karakteristik</u>	
<u>Isolat 1</u>	
Oxidase	+
Catalase	+
Motility	+
Lysine Decarboxylase (LYS)	+
Ornithine Decarboxyl (ORN)	+
H <sub>2</sub> S production (H <sub>2</sub> S)	-
Acid from Glucose (GLU)	+
Acid from Mannitol (MAN)	-
Acid from Xylose (XYL)	+
ONPG	-
Indole (IND)	-
Urea Hydrolysis (UR)	+
Voges Proskauer (VP)	-
Citrate Utilization (CIT)	+
Tryptophan Deaminase (TDA)	+
Gelatin Liquefaction (GEL)	-
Malonate Inhibition (MAL)	+
Acid from Inositol (INO)	-
Acid from Sorbitol (SOR)	-
Acid from Rhamnose (RHA)	-
Acid from Sucrose (SUC)	-
Acid from Lactose (LAC)	-
Acid from Arabinosa (ARA)	-
Acid from Adonitol (ADO)	-
Acid from Raffinose (RAF)	-
Acid from Salicin (SAL)	-
Arginine Dihydrolase (ARG)	+

Uji reaksi fermentasi karbohidrat (gula- gula) yaitu uji glukosa dan xilosa diperoleh hasil positif, artinya bakteri *Pseudomonas aeruginosa* membentuk asam dari hasil fermentasi glukosa dan xilosa. Namun, sorbitol, laktosa, raffinose, manitol, rhamnose, arabinose, salisin, inositol, sukrosa, dan adonitol diperoleh hasil negatif, dan ini menunjukkan bahwa bakteri *Pseudomonas aeruginosa* tidak membentuk asam dari fermentasi sorbitol, laktosa, raffinose, manitol, rhamnose, arabinosa, salisin, inositol, sukrosa, dan adonitol dan tidak memerlukan gula ini untuk proses metabolismenya. Hal ini sesuai dengan

temuan Aryal (2018) bahwa *Pseudomonas aeruginosa* memiliki aktivitas oksidase dan tidak menghifemat karbohidrat, tetapi hanya beberapa spesies yang dapat memetabolisme glukosa.

Uji ONPG (o-nitro-fenil-β-D-galactopyranoside) menunjukkan hasil negatif, menunjukkan bahwa *Pseudomonas aeruginosa* tidak dapat mengkatalisis ONPG selama proses fermentasi. Begitu pula pada tes VP (Voges- Proskauer) didapatkan hasil negatif; hal ini menunjukkan bahwa bakteri *Pseudomonas aeruginosa* tidak menghasilkan asam melainkan basa Aryal (2018). Pada uji urea didapatkan hasil positif, lebih lanjut menunjukkan bahwa *Pseudomonas aeruginosa* membutuhkan urea untuk proses metabolisme atau fermentasi, menyiratkan bahwa bakteri ini dapat menghidrolisis urea menjadi amonia. Uji penggunaan sitrat memberikan hasil positif yang menunjukkan bahwa *Pseudomonas aeruginosa* membutuhkan sitrat dalam proses metabolismenya (England, 2018).

Pada uji H<sub>2</sub>S diperoleh hasil negatif yang menunjukkan bahwa *Pseudomonas aeruginosa* tidak memanfaatkan H<sub>2</sub>S besi (II) sulfat membentuk endapan hitam (FeS) (Thakur et al., 2021). Selain itu, uji

indol memberikan hasil negatif yang menunjukkan bahwa *Pseudomonas aeruginosa* tidak menghasilkan indol dari triptofan sebagai sumber karbon (England, 2018). Hal ini mirip dengan klaim Posy Joan Banks (2019) bahwa *Pseudomonas aeruginosa* memiliki biokimia reaksi IMViC (Indol, Methyl Red, Voges Proskauer, dan Citrate) kecuali sitrat.

Pada uji motiliti didapatkan hasil positif. Hal ini menunjukkan bahwa *Pseudomonas aeruginosa* bersifat motil atau bergerak. Namun pada uji reduksi nitrat didapatkan hasil negatif yang menunjukkan bahwa *Pseudomonas aeruginosa* tidak dapat mereduksi nitrat menjadi nitrit.

Tabel 2 menunjukkan bahwa berdasarkan hasil identifikasi menggunakan Microbact Identification System Kit, isolat kode 1 adalah *Pseudomonas aeruginosa* dengan akurasi 98,33%.

**Tabel 2. Hasil Identifikasi Isolasi Bakteri**

Kode Isolat	Spesies	Persentase kemiripan
Isolat 1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	98,33%

Pada tahap identifikasi bakteri dilakukan penamaan spesies bakteri tertentu berdasarkan ciri-ciri atau karakteristik bakteri (Boleng, 2017). Identifikasi bakteri dilakukan dengan melihat karakter fisiologis isolat bakteri

menggunakan microbact kit. Artati and Oman (2019) mengatakan microbact kit adalah alat yang digunakan untuk mengidentifikasi bakteri dengan melihat hasil parameter yang ada dan dimasukkan ke dalam sistem untuk mengetahui jenis bakteri yang ditentukan. Seperti penelitian yang dilakukan oleh Lutfi et al., (2018), penggunaan microbact kits, termasuk isolat murni yang telah didapatkan, akan disiapkan untuk pertumbuhan dan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, 1-5 koloni murni diambil dari media agar. Selanjutnya ditambahkan 5 mL larutan NaCl fisiologis 0,85%. Larutan NaCl yang berisi sel bakteri tersebut kemudian dimasukkan ke dalam microbact kit yang masing-masing diisi 200 µl. Pelat kit microbact selanjutnya diinkubasi dalam waktu 12-18 jam pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, dilakukan pembacaan hasil reaksi pada Microbact Kit Plates. Kemudian data reaksi dari isolat tunggal tersebut diidentifikasi menggunakan software microbact dan mengacu pada buku Bergey. Isolat bakteri yang telah diidentifikasi memiliki kemiripan dengan spesies bakteri yaitu *Pseudomonas aeruginosa* dengan persentase akurasi tingkat kemiripan sebesar 98,33%. Sunaryanto (2017) menyatakan bahwa isolasi

isolasi dari lapangan minyak Cepu, Cirebon, Rantau, dan Prabumulih mengidentifikasi spesies *Pseudomonas aeruginosa* dan spesies *Bacillus coagulans*. Sementara itu, bakteri dominan dari genus *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Acinetobacter*, *Arthobacter*, dan *Bacillus* dapat mendegradasi hidrokarbon aromatik seperti fenol.

### KESIMPULAN

Hasil Isolasi dan Identifikasi bakteri Indigenus Termofilik dari Oil Sludge Kalimantan Timur ditemukan spesies *Pseudomonas aeruginosa* dengan tingkat kemiripan 98,33%. Isolat bakteri yang teridentifikasi nantinya dapat digunakan sebagai agen bioremediasi pada tanah tercemar lumpur minyak.

### DAFTAR PUSTAKA

- Afianti, N.F., Febrian, D. and Falahudin, D. (2019) 'Isolasi Bakteri Pendegradasi Minyak Mentah dan Polisiklik Aromatik Hidrokarbon dari Sedimen Mangrove Bintan', *Oseanologi dan Limnologi di Indonesia*, 4(3), p. 155. Available at: <https://doi.org/10.14203/oldi.2019.v4i3.260>.
- Al-joda, B.M.S. and Jasim, A.H. (2021) 'Biochemical Testing Revision For Identification Several Kinds of Bacteria', *Journal of University of Babylon*, 29(2), pp. 168–176.
- Artati, D. and Oman, M. (2019) 'Identifikasi Bakteri Melalui Penggunaan Kit Analytical Profile Index (API) 20E', *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*, 17(2), pp. 149–153.
- Aryal, S. (2018) 'Biochemical Test of *Pseudomonas aeruginosa*'. Diakses pada tanggal 22 Desember 2022 melalui <https://microbenotes.com/biochemical-test-of-pseudomonas-aeruginosa/>
- Bhumbla, U. (2018) 'Workbook for Practical Microbiology', *Workbook for Practical Microbiology [Preprint]*, (January 2018). Available at: <https://doi.org/10.5005/jp/books/14206>.
- Boleng, D.T. (2017) *Bakteriologi: Konsep- Konsep Dasar*. Malang: UMM Press. Cahyani, A.M., Busyairi, M. and
- Nurdiana, J. (2017) 'Identifikasi Timbulan Limbah Sludge Oil dari Kegiatan Eksploitasi dan Produksi Minyak dan Gas Bumi PT. AMC', *Prosiding Seminar Nasional XII*, pp. 282–287.
- England, P.H. (2018) 'UK Standards for Microbiology Investigations Indole Test'.
- Hamidah, N.M., Rianingsih, L. and Romadhon (2019) 'aktivitas antibakteri isolat bakteri asam laktat dari peda dengan jenis ikan berbeda terhadap *E. coli* dan *S. aureus*', *Jurna Ilmu dan Teknologi Perikanan*, 1(2), pp. 11–20.

- Karina, A.I. (2016) 'Isolasi dan identifikasi bakteri penambat nitrogen, pelarut fosfat dan bakteri pendegradasi selulosa pada tanah bekas tanaman bawang merah (*Allium cepa* L.) yang Diberi Biofertilizer'.
- Kurniawan, A. et al. (2015) 'biodegradasi residu total petroleum hidrokarbon di bawah konsentrasi 1% (w/w) hasil proses bioremediasi (Biodegradation of Total Petroleum Hydrocarbons Residues below 1% Concentration (W/W) Using Bioremediation Process)', *Jurnal Manusia dan Lingkungan*, 21(3), pp. 286–294.
- Kurniawan, A. et al. (2018) 'Hidrokarbon Aromatik Polisiklik pada Lahan Tercemar Limbah Minyak Bumi: Tinjauan Pertumbuhan Mikro- Organisme, Proses Metabolisme dan Biodegradasi', *Jurnal Ilmu Lingkungan*, 16(1), p. 9. Available at: <https://doi.org/10.14710/jil.16.1.9-24>.
- Kuswiyanto (2016) *Bakteriologi 2 Buku Ajar Analisis Kesehatan*. EGC.
- Mikdarullah, M. and Nugraha, A. (2017) 'Teknik Isolasi Bakteri Proteolitik Dari Sumber Air Panas Ciwidey, Bandung', *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*, 15(1), p. 11. Available at: <https://doi.org/10.15578/blta.15.1.2017.11-14>.
- Obi, L.U., Atagana, H.I. and Adeleke, R.A. (2016) 'Isolation and characterisation of crude oil sludge degrading bacteria', *SpringerPlus*, 5(1). Available at: <https://doi.org/10.1186/s40064-016-3617-z>.
- Pratiwi, W.M. and Asri, M.T. (2022) 'Isolasi dan Identifikasi Bakteri Indigenous Pendegradasi Pestisida Profenofos dan Klorantraniliprol di Jombang Jawa Timur', *LenteraBio : Berkala Ilmiah Biologi*, 11(2), pp. 300–309. Available at: <https://doi.org/10.26740/lentera.bio.v11n2.p300-309>.
- Puspitasari, I., Trianto, A. and Supriyanto, J. (2020) 'Eksplorasi Bakteri Pendegradasi Minyak dari Perairan Pelabuhan Tanjung Mas, Semarang', *Journal of Marine Research*, 9(3), pp. 281–288. Available at: <https://doi.org/10.14710/jmr.v9i3.27606>.
- Sari, S.K. et al. (2022) 'Comparison of nutrient- rich and limited media in the production of biosurfactant by *Achromobacter xylosoxidans* BP(1)5', *Malaysian Journal of Microbiology*, 18(2), pp. 215–221.
- Smith, A. and Hussey, M. (2005) 'American Society for Microbiology: Gram Stain Protocols', (September 2005), pp. 1–9.
- Sunaryanto, R. (2017) 'Bioremediasi Hidrokarbon Minyak Bumi Menggunakan Isolat Indigenous', *Prosiding Seminar Nasional Inovasi Teknologi*, pp. 147–153.

- 
- Thakur, S., Anokhe, A. and Kalia, V. (2021) 'AgriCos e-Newsletter', (November).
- Titah, H.S. et al. (2017) 'Identification of Diesel Resistant Bacteria that Isolated from Ship Dismantling Area in Madura Coastal', Proceedings of International Conference, (C), pp. 155–163.
- Vithanage, N.R. et al. (2014) 'Comparison of identification systems for psychrotrophic bacteria isolated from raw bovine milk', International Journal of Food Microbiology, 189, 26–38. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.07.023>.
- Yuliawatin, E.T. et al. (2017) 'Potency of Oil Sludge Indigenous Bacteria From Dumai-Riau in Producing Biosurfactant on Variation of Saccharide', Proceeding of International Conference on Green Technology, 8(1), pp. 339–346.
- Lutfi, S.R. et al. (2018) 'Bioremediasi Merkuri Menggunakan Bakteri Indigenous Dari Limbah Penambangan Emas Di Tumpang Pitu, Banyuwangi', Jurnal Teknologi Pertanian, 19(1), pp. 15–24. Available at: <https://doi.org/10.21776/ub.jtp.2018.019.01.2>