

PEMENCILAN DAN PENCIRIAN BAKTERIA DI DALAM TANAH DICEMARI
MINYAK KENDERAAN DAN KAJIAN KEBOLEHANNYA MENDEGRADASI
HEKSANA

INTAN IZIYAN BT. KAMARUDIN

TESIS INI DIKEMUKAKAN UNTUK MEMENUHI SEBAHAGIAN DARIPADA
SYARAT MEMPEROLEHI IJAZAH SARJANA MUDA SAINS DENGAN KEPUJIAN

PROGRAM SAINS SEKITARAN
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

2006



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

JUDUL: PEMENCILAN DAN PENCIRIAN BAKTERIA DI DALAM TANAH
DICEMARI MINYAK KENDERAAN DAN KASIAN KELEHANNYA MENDEGRADAS
HEKSANA -
 IJAZAH: IJAZAH SARJANA MUDA SAINS DENGAN KEPUJIAN
CSAINS SEFITARAN)

SAYA INTAN IZIAN BT. KARARUDIN SESI PENGAJIAN: 2003/2004
 (HURUF BESAR)

mengaku membenarkan tesis (LPSM/Sarjana/Doktor Falsafah) ini disimpan di Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dengan syarat-syarat kegunaan seperti berikut:-

1. Tesis adalah hakmilik Universiti Malaysia Sabah.
2. Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dibenarkan membuat salinan untuk tujuan pengajian sahaja.
3. Perpustakaan dibenarkan membuat salinan tesis ini sebagai bahan pertukaran antara institutsi pengajian tinggi.
4. Sila tandakan (/)

SULIT

(Mengandungi maklumat yang berdarjah keselamatan atau Kepentingan Malaysia seperti yang termaktub di dalam AKTA RAHSIA RASMI 1972)

TERHAD

(Mengandungi maklumat TERHAD yang telah ditentukan oleh organisasi/badan di mana penyelidikan dijalankan)

TIDAK TERHAD

Disahkan Oleh

YTM

(TANDATANGAN PENULIS)

(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

Alamat Tetap: 1771B, TAN. CHENDERING UTAMA,
21080 KUALA TERENGGANU,
TERENGGANU

CIK KANSIA BUDIN
 Nama Penyelia

Tarikh: 3/5/06

Tarikh: 3/5/06

CATATAN:- *Potong yang tidak berkenaan.

**Jika tesis ini SULIT atau TERHAD, sila lampirkan surat daripada pihak berkuasa /organisasi berkenaan dengan menyatakan sekali sebab dan tempoh tesis ini perlu dikelaskan sebagai SULIT dan TERHAD.

@Tesis dimaksudkan sebagai tesis bagi Ijazah Doktor Falsafah dan Sarjana secara penyelidikan atau disertai bagi pengajian secara kerja kursus dan Laporan Projek Sarjana Muda (LPSM).



PENGAKUAN

Saya akui karya ini adalah hasil kerja saya sendiri kecuali nukilan dan ringkasan yang setiap satunya telah dijelaskan sumbernya.

April 2006



INTAN IZIYAN BT. KAMARUDIN

HS2003-3165



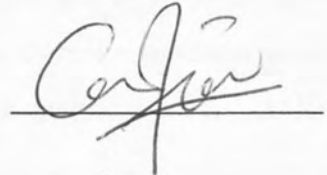
UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

DIPERAKUKAN OLEH

Tandatangan

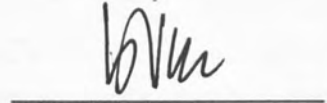
1. PENYELIA

(Cik Kamsia Budin)



2. PEMERIKSA 1

(Dr. Vun Leong Wan)



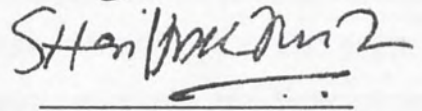
3. PEMERIKSA 2

(Dr. Piakong b. Mohd. Tuah)



4. DEKAN

(Supt/Ks Prof. Madya Dr. Shariff A. K. Omang)



PENGHARGAAN

Bersyukur kepada Allah S.W.T. kerana dengan izinnya dapat saya menyiapkan kajian ini. Penghargaan dan ucapan terima kasih yang tidak terhingga ingin ditujukan kepada pensyarah-pensyarah Sains Sekitaran yang banyak memberi panduan sepanjang proses menjalankan kajian ini terutama Dr. Vun dan juga penyelia saya, Cik Kamsia Budin.

Tidak lupa ucapan terima kasih kepada pembantu-pembantu makmal Sekolah Sains dan Teknologi yang banyak membantu dalam urusan menyiapkan kajian di dalam makmal terutama dari segi pencarian alat radas dan bahan kimia.

Penghargaan ini juga ditujukan kepada ibu bapa saya yang sering menyokong dan mendoakan kejayaan saya selama ini. Buat kawan-kawan, terima kasih di atas segala dorongan dan kata semangat yang diberikan, kenangan kita bersama tidak akan dilupakan. Sekian, terima kasih.

Intan Iziyan bt. Kamarudin



ABSTRAK

Kajian dijalankan ke atas tanah yang dicemari minyak kenderaan bagi mengenalpasti ciri-ciri fizikal bakteria yang wujud dan mengkaji kebolehan bakteria-bakteria ini mendegradasi hidrokarbon ringkas di dalam minyak kenderaan iaitu heksana. Lima koloni bakteria berjaya dipencilkan daripada sampel tanah ini. Kelima-lima koloni bakteria merupakan bakteria Gram negatif dan menunjukkan ketiga-tiga morfologi asas mikroorganisma iaitu rod, kokus dan berpilin. Ini dikenalpasti hasil daripada ujian pewarnaan Gram yang dijalankan. Ciri-ciri fizikal koloni bakteria dikenalpasti melalui pengkulturan bakteria di atas media nutrien agar (NA). Ciri-ciri fizikal yang diperhatikan adalah dari segi warna, konfigurasi, margin dan ketinggian koloni. Ujian kebolehan bakteria mendegradasi heksana dijalankan mengikut kaedah Saadoun (2004) yang bergantung kepada penghasilan enzim monooxygenase oleh bakteria bagi mendegrad heksana kepada alkohol. Perubahan warna biru larutan ujian, yang terdiri daripada campuran lima bahan iaitu DCPIP, 5-MPMS, heksana, nicotamide adenine dinucleotide (NAD) dan sel bakteria diperhatikan pada selang masa 1, 2, 6, 8 dan 24 jam. Perubahan warna larutan kepada warna kuning menandakan bakteria dapat mendegradasi heksana manakala warna selain kuning dianggap tidak dapat mendegradasi hidrokarbon ringkas ini. Namun, bagi ujian pengkulturan bakteria di atas media yang mengandungi heksana, kelima-lima bakteria dapat tumbuh dengan baik. Ini menunjukkan walaupun bakteria tidak dapat mendegradasi heksana melalui kaedah ini tetapi ia mungkin menggunakannya sebagai nutrien. Justeru, kajian lebih lanjut perlu dijalankan bagi memastikan kebolehan sebenar bakteria-bakteria ini dalam proses degradasi hidrokarbon ringkas, heksana.



ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF BACTERIA IN FUEL-OIL POLLUTED SOIL AND THE STUDY OF THEIR CAPABILITY TO DEGRADE HEXANE

ABSTRACT

This study was carried out to identify physical characteristic of bacteria that exist in the fuel-oil polluted soil and to study their capability to degrade short chain hydrocarbons, hexane. Five bacteria colonies have been cultured from the soil sample using nutrient agar (NA). From Gram staining test, it shows that all bacteria are Gram negative and they consist of three main morphology that are rod, coccus and spiral. Physical characteristic that were identified for the bacterial colonies are colonies color, configuration, margin and elevations. The study of bacteria capability to degrade hexane was carried out using Saadoun (2004) method. It depends on the enzymatic pathway (monooxygenase enzyme) that the bacteria utilize to degrade hexane and produce alcohol. This ability is indicated by the color change at the end of the reaction time that is after 24 hours. Formation of yellow color from blue color shows the capability of bacteria to degrade hexane. The test solution for this test consist of five items, which are DCPIP, 5-MPMS, hexane, nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) and bacteria cell. Unfortunately, five bacteria isolated from the soil samples do not have the capability to degrade hexane. However, these bacteria can grow in the media containing hexane. It shows that the bacteria have the probability to use hexane for their growth even though they do not degrade hexane. Further studies should be carried out to understand the real capability of these bacteria in degrading short chain hydrocarbons, which is hexane.



SENARAI KANDUNGAN

	Muka Surat
PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN PEMERIKSA	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
SENARAI KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	x
SENARAI RAJAH	xi
SENARAI FOTO	xii
SENARAI SIMBOL	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 PENCEMARAN HIDROKARBON	1
1.2 OBJEKTIF KAJIAN	3
BAB 2 ULASAN PERPUSTAKAAN	4
2.1 TANAH	4
2.1.1 Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisma dalam tanah	7
2.1.1.1 Faktor fizikal	8
2.1.1.2 Faktor kimia	9
2.2 PENCEMARAN HIDROKARBON PETROLEUM	11



2.2.1	Hidrokarbon ringkas	12
2.3	BIODEGRADASI	13
2.4	BAKTERIA	15
2.4.1	<i>Pseudomonas</i>	17
2.4.2	<i>Acinetobacter</i>	18
2.4.3	<i>Flavobakterium</i>	19
BAB 3	METODOLOGI	20
3.1	PENYEDIAAN MEDIA	21
3.2	PENGAMBILAN SAMPEL	21
3.3	PENENTUAN CIRI FIZIKAL DAN KIMIA TANAH	22
3.3.1	pH tanah	22
3.3.2	Penentuan kelembapan tanah	23
3.3.3	Penentuan kandungan bahan organik	23
3.4	PENKULTURAN BAKTERIA	24
3.4.1	Subkultur bakteria	25
3.5	UJIAN PEWARNAAN GRAM	25
3.6	DEGRADASI HEKSANA	26
3.6.1	Tindakan enzim monooxygenase	26
3.6.2	Pengkulturan di atas heksana	28
BAB 4	KEPUTUSAN	29
4.1	SIFAT FIZIKAL DAN KIMIA TANAH	29
4.2	PENCIRIAN BAKTERIA DALAM TANAH DICEMARI MINYAK KENDERAAN	31



4.3	KEBOLEHAN BAKTERIA MENDEGRADASI HEKSANA	35
4.3.1	Tindakan enzim monooxygenase	35
4.3.2	Pengkulturan di atas heksana	37
BAB 5	PERBINCANGAN	40
5.1	PERSAMPELAN TANAH	40
5.2	SIFAT FIZIKAL DAN KIMIA TANAH	41
5.2.1	Faktor fizikal	41
5.2.2	Faktor kimia	44
5.3	IDENTIFIKASI CIRI-CIRI FIZIKAL BAKTERIA	45
5.4	KEBOLEHAN BAKTERIA MENDEGRADASI HEKSANA	46
5.4.1	Tindakan enzim monooxygenase	46
5.4.2	Pengkulturan di atas heksana	48
BAB 6	KESIMPULAN	51
	RUJUKAN	53
	LAMPIRAN	57



SENARAI JADUAL

	Muka Surat
2.1 Peratusan koloni bakteria mengikut genus di dalam tanah	6
2.2 Keperluan oksigen untuk pertumbuhan mikroorganisma	10
2.4 Bakteri-bakteria pendegrad hidrokarbon	16
4.1 Sifat-sifat fizikal dan kimia sampel tanah	30
4.2 Pencirian ciri fizikal koloni bakteria	31
4.3 Pemerhatian perubahan warna pada selang masa 1, 2, 6, 8 dan 24 jam	36
4.4 Pertumbuhan bakteria di atas heksana mengikut isipadu (50 μ l dan 100 μ l)	39

SENARAI RAJAH

	Muka Surat
2.1 Horizon-horizon tanah	5
2.2 Keupayaan hidrokarbon didegradasi oleh bakteria	14
3.1 Langkah-langkah menjalankan kajian	20
3.2 Tindakbalas degradasi alkana oleh bakteria	28
5.1 Tindakbalas am degradasi hidrokarbon oleh enzim monooxygenase	47



SENARAI FOTO

	Muka Surat
4.1 Koloni bakteria NA1	32
4.2 Koloni bakteria NA2	32
4.3 Bakteria NA1 (berbentuk kokus dan Gram negatif)	33
4.4 Bakteria NA3 (berbentuk rod dan Gram negatif)	34
4.5 Bakteria NA4 (berbentuk pilin dan Gram negatif)	34
4.6 Ujian degradasi bagi kelima-lima bakteria (masih menunjukkan warna biru selepas 24 jam)	36
4.7 4 kawalan ujian degradasi	36
4.8 Pertumbuhan bakteria NA2 di atas agar Nutrien yang mengandungi 50 µl heksana	38
4.9 Pertumbuhan bakteria NA1 di atas agar Nutrien yang mengandungi 100 µl heksana	38

SENARAI SIMBOL

M	molar
ml	mililiter
μ l	mikroliter
cm	sentimeter
g	gram
%	peratus
v/v	isipadu per isipadu
-	sehingga
$^{\circ}$ C	darjah Celcius



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Pencemaran hidrokarbon

Pencemaran persekitaran boleh ditakrifkan sebagai persekitaran yang mengandungi bahan-bahan di dalam kuantiti dan kepekatan tertentu akan membahayakan semua hidupan samaada secara langsung atau tidak langsung. Pencemaran hidrokarbon berlaku secara semulajadi dan akibat tindakan manusia. Pencemaran hidrokarbon dari tindakan manusia sering memberi kesan buruk pada persekitaran. Pencemaran hidrokarbon ini berpunca antaranya dari penggunaan pestisid di kawasan pertanian, hasil industri dan penggunaan hasil petroleum. Pencemaran hidrokarbon petroleum menjadi tumpuan kerana penggunaannya yang luas di dalam kehidupan.

Pembersihan pencemaran ini boleh dilakukan secara teknologi konvensional atau sistem biologi. Sistem biologi lebih menjadi keutamaan kerana teknologi konvensional seperti pembakaran menggunakan insinerator dan tapak pelupusan bahan pencemar melibatkan kos yang tinggi dan kebanyakannya tidak memusnahkan bahan pencemar tetapi mengubahnya ke persekitaran yang lain. Penggunaan mikroorganisma untuk



menguraikan bahan pencemar yang berbahaya kepada suatu bentuk yang lebih ringkas secara biologi, dikenali sebagai proses biodegradasi atau bioremediasi. Sistem pemulihan secara biologi telah digunakan untuk mengurangkan kesan buruk bahan pencemar kepada tiga media persekitaran yang utama iaitu tanah, air dan udara (Eweis *et al.*, 1998). Teknologi biodegradasi telah berkembang sejak 20 tahun lalu dan menjadi salah satu teknologi yang diguna untuk pembersihan bahan pencemar terutamanya hidrokarbon petroleum.

Mikroorganisma yang sering dianggap membahayakan sebenarnya sangat penting bagi kehidupan manusia dan organisma lain. Pada tahun 1988, saintis telah mula menggunakan mikroorganisma untuk membersihkan bahan pencemar dan bahan toksik yang dihasilkan dari pelbagai jenis industri (Tortora *et al.*, 2004). Antara mikroorganisma yang sering digunakan adalah bakteria dari genus *Pseudomonas* dan *Bacillus*.

Pada tahun 90-an, proses degradasi banyak ditumpukan pada tanah yang dicemari dengan produk-produk petroleum. Ini disebabkan kebanyakan hidrokarbon petroleum secara relatifnya mudah untuk didegradasi dan juga disebabkan terlalu banyak kawasan yang dicemari hidrokarbon petroleum terutama disebabkan oleh kebocoran tangki simpanan petroleum bawah tanah (Eweis *et al.*, 1998).



1.2 Objektif kajian

Kajian ini mempunyai dua objektif penting iaitu:

1. Pencirian ciri fizikal bakteria yang dipencilkan dari tanah dicemari minyak kenderaan merangkumi warna, konfigurasi, margin dan ketinggian koloni, morfologi dan jenis Gram bakteria.
2. Menguji kebolehan bakteria yang telah dikenalpasti untuk mendegradasi heksana.

Kajian ini penting bagi mengenalpasti ciri-ciri bakteria yang berpotensi mendegradasi hidrokarbon petroleum, di mana ia mungkin boleh digunakan dalam teknologi biodegradasi bahan pencemar di Malaysia secara lebih efektif.



BAB 2

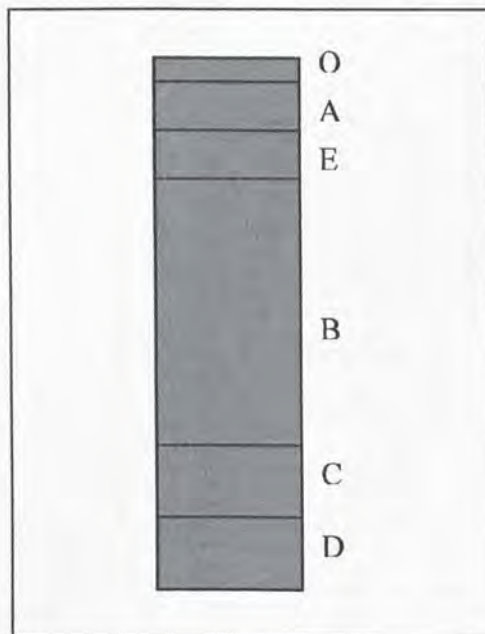
ULASAN PERPUSTAKAAN

2.1 Tanah

Tanah merujuk kepada bahagian paling luar bumi iaitu kerak bumi yang terbentuk hasil daripada proses luluhawa yang berlaku terhadap batuan di bawah lapisan kerak bumi. Bagi perspektif pertanian, tanah merupakan kawasan yang menjadi penyokong kepada hidupan tumbuh-tumbuhan, di mana tanah merupakan sumber nutrien dan penyokongnya secara mekanikal. Dari perspektif kimia, tanah terdiri daripada bahan-bahan organik yang tidak dijumpai di strata bumi di bawahnya. Manakala, dari perspektif mikrobiologis, tanah merupakan suatu persekitaran yang unik. Ia terdiri daripada pelbagai jenis bakteria, fungi, alga dan protozoa; tanah merupakan bahagian yang paling dinamik di mana berlakunya tindakan biologi dan biokimia dengan bahan-bahan organik, proses luluhawa batuan dan wujudnya sumber nutrien yang penting untuk pertanian dan pertumbuhan tumbuh-tumbuhan (Alexander, 1977 ; Buscot dan Varma, 2005).



Tanah terbentuk daripada lima komponen utama iaitu bahan mineral, bahan organik, air, udara dan organisma hidup. Kuantiti bagi kelima-lima komponen ini di dalam tanah adalah berbeza dari satu kawasan ke satu kawasan yang lain. Ekologi mikroorganisma didapati wujud dan bertindak aktif di permukaan tanah, pada kedalaman 1 sehingga 10 cm. (Alexander, 1977 ; Dobbins, 1995 ; Tate, 2000). Mengikut profil tanah yang dibahagikan kepada enam horizon iaitu horizon O, A, E, B, C dan D, tanah pada kedalaman ini berada di dalam horizon O. Horizon O adalah horizon permukaan tanah, iaitu lapisan yang kaya dengan aktiviti biologi dan lapisan yang paling banyak mengandungi haiwan-haiwan kecil, mikroorganisma dan akar-akar tumbuhan (Salomon dan Stigliani , 1995). Horizon –horizon tanah ini boleh dilihat pada Rajah 2.1 di bawah. Horizon O terdiri daripada bahan-bahan organik termasuk daun-daun dan ranting pokok yang belum diurai serta hidupan-hidupan kecil. Tanah di horizon ini selalunya berwarna coklat atau hitam (Tate, 2000 ; Botkin dan Keller, 2003).



Rajah 2.1 Horizon-horizon tanah

Tanah dikenalpasti sebagai habitat utama bagi mikroorganisma. Didapati 10^8 sel bakteria yang boleh dikultur terdapat di dalam g^{-1} tanah pertanian. Ini hanya mewakili 10 % daripada jumlah populasi mikroorganisma, kerana terdapat banyak lagi yang tidak dapat dikultur dan dikenalpasti (Jan Dirk van Elsas *et al.*, 1997).

Di antara genera bakteria yang sering ditemui di dalam tanah termasuklah *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Caulobacter*, *Cellulomonas*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* dan *Xanthomonas* (Alexander, 1977). Peratus koloni genera bakteria yang ditemui di dalam tanah ditunjukkan di dalam jadual di bawah (Jadual 2.1).

Jadual 2.1 Peratusan koloni bakteria mengikut genus di dalam tanah (Alexander, 1977)

Genus	Peratusan (%)
<i>Arthrobacter</i>	5 – 60
<i>Bacillus</i>	7 – 67
<i>Pseudomonas</i>	3 – 15
<i>Agrobacterium</i>	1 – 20
<i>Alcaligenes</i>	1 – 20
<i>Flavobacterium</i>	1 – 20
<i>Corynebacterium</i>	2 – 12
<i>Micrococcus</i>	2 – 10
<i>Staphylococcus</i>	Kurang daripada 5
<i>Xanthomonas</i>	Kurang daripada 5
<i>Mycobacterium</i>	Kurang daripada 5

Keadaan tanah yang sesuai seperti kandungan air, suhu, pH dan kelembapan mempengaruhi pertumbuhan dan kuantiti mikroorganisma yang wujud di dalam sesuatu jenis tanah.

2.1.1 Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisma dalam tanah

Pertumbuhan dan kepelbagaian mikroorganisma yang wujud di dalam tanah dipengaruhi banyak faktor. Faktor-faktor yang dapat dikenalpasti boleh digunakan dalam membiakkan sesuatu spesis mikroorganisma terutamanya pembiakan mikroorganisma yang berguna kepada manusia seperti mikroorganisma pengurai nitrogen dan mikroorganisma yang boleh mendegradasi xenobiotik (Jan Dirk van Elsas *et al.*, 1997). Pengetahuan ini juga berguna untuk mengawal pembiakan mikroorganisma yang memberi kesan buruk pada manusia dan sekitaran seperti patogen kepada manusia, haiwan dan tumbuhan.

Faktor-faktor yang mempengaruhi aktiviti, ekologi dan populasi mikroorganisma di dalam tanah boleh dibahagikan kepada dua iaitu faktor kimia dan faktor fizikal. Faktor kimia merujuk kepada karbon, iaitu sebagai sumber tenaga mikrob, nutrien dan oksigen. Faktor fizikal adalah suhu, pH dan air (Suthersan, 1999 ; Tortora *et al.*, 2004).



2.1.1.1 Faktor fizikal

Pertumbuhan mikroorganisma mengikut suhu boleh diklasifikasikan kepada tiga kumpulan iaitu psikrofil, mikrob yang hidup pada suhu yang rendah antara -10 sehingga 10 °C, mesofil, mikroorganisma yang hidup pada suhu antara 10 sehingga 50°C dan kumpulan terakhir iaitu termofil, mikrob yang hidup pada suhu yang tinggi iaitu pada suhu 50 °C ke atas. Tanah secara umumnya terdiri daripada mikroorganisma yang bersifat mesofilik iaitu yang hidup pada suhu sederhana antara 20°C hingga 30 °C. (Tortora *et al.*, 2004). Suhu tanah yang berbeza mempengaruhi spesis dan kuantiti bakteria yang wujud di dalam sesuatu kawasan.

Kepekatan ion hidrogen di dalam tanah atau pH turut memberi kesan terhadap populasi mikroorganisma tanah. Keadaan berasid atau beralkali yang sangat tinggi boleh merencatkan pertumbuhan mikroorganisma (Alexander, 1977). Bagi tanah yang berasid, pH di bawah 5.5, populasi fungi adalah lebih banyak berbanding bakteria. Manakala bakteria mendominasi tanah yang berkeadaan menghampiri neutral iaitu pada pH antara 6.5 hingga 7.5 (Suthersan, 1999 ; Tate, 2000).

Kelembapan tanah yang tinggi akan menyebabkan pengurangan kuantiti oksigen, ini disebabkan oleh air yang berlebihan mengisi ruang dan menghadkan gas oksigen yang terkandung di dalam tanah. Had optimum kelembapan tanah bagi aktiviti mikroorganisma yang aktif adalah 50 hingga 75 % (Alexander, 1977). Kelembapan sangat berkait rapat dengan jumlah populasi bakteria yang wujud di dalam tanah. Selain



faktor fizikal, faktor kimia turut mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisma iaitu nutrien, oksigen dan karbon.

2.1.1.2 Faktor kimia

Tiga faktor kimia yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisma di dalam tanah adalah nutrien, oksigen dan karbon. Faktor pertama ialah nutrien. Tiga nutrien yang penting adalah nitrogen, fosforus dan sulfur. Penambahan nutrien-nutrien ini dikenali dapat menambahkan pertumbuhan mikroorganisma yang dikehendaki, namun pengkayaan nutrien yang berlebihan juga boleh merencatkan pertumbuhan dan aktiviti mikroorganisma ini. Contohnya aktiviti penguraian lignin oleh *Phanerochaete* *Chrysosporium* terencat disebabkan kelebihan nutrien nitrogen (Jan Dirk van Elsas *et al.*, 1997). Kajian bagi tanah yang dicemari minyak petroleum didapati mengandungi sumber nutrien nitrogen, fosforus dan sulfur yang dapat menyebabkan pertumbuhan bakteria dan fungi di dalamnya. Kajian ini dilakukan menggunakan pemeriksaan unit pembentukan koloni bakteria dan fungi (CFU) pada kedalaman tanah 0 hingga 5 cm (Tate dan Klein, 1985).

Mikroorganisma yang menggunakan oksigen; aerob, untuk mendapatkan nutrien menghasilkan lebih tenaga daripada mikrob anaerob iaitu yang tidak menggunakan oksigen. Mikroorganisma boleh dibahagikan kepada tiga jenis mengikut keperluan oksigen untuk pertumbuhan iaitu aerob obligat, anaerob fakultatif dan obligat fakultatif.



Penerangan bagi ketiga-tiga jenis keperluan oksigen untuk pertumbuhan mikroorganisma diringkaskan seperti di dalam jadual di bawah (Jadual 2.2).

Jadual 2.2 Keperluan oksigen untuk pertumbuhan mikroorganisma
(Tortora *et al.*, 2004)

Keperluan oksigen	Penerangan
Aerob obligat	Mikroorganisma yang memerlukan oksigen untuk pertumbuhan dan hidup.
Anaerob fakultatif	Mikroorganisma yang boleh hidup dengan adanya oksigen dan juga tanpa kehadiran oksigen.
Obligat fakultatif	Mikroorganisma yang tidak boleh hidup atau tumbuh dengan adanya oksigen.

Faktor kimia yang terakhir adalah karbon sebagai sumber tenaga. Karbon wujud di dalam persekitaran sebagai komponen kimia dari keadaan gas; metana (CH₄) dan karbon dioksida (CO₂), kepada cecair seperti petroleum dan minyak tumbuhan sehingga ke bentuk pepejal seperti gula polimerik dan tar (Bossert dan Compeau, 1995). Penambahan karbon ke dalam tanah dapat meningkatkan pertumbuhan mikroorganisma, namun pertumbuhan ini akan kembali kepada asal apabila sumber karbon habis digunakan. Sumber karbon di dalam tanah kebiasaannya didapati daripada hasil reputan tumbuhan dan haiwan (Jan Dirk van Elsas *et al.*, 1997). Namun kehadiran karbon lain secara berlebihan seperti hidrokarbon yang terkandung di dalam petroleum telah menimbulkan masalah pencemaran. Hidrokarbon ini wujud hasil dari aktiviti antropogenik seperti tumpahan

RUJUKAN

- Alexander, M., 1977. *Introduction to Soil Microbiology*. John Wiley & Sons, New York.
- Atlas, R. M., 1975. Effects of Temperature and Crude Oil Composition on Petroleum Biodegradation. *Applied Microbiology* **30** (3), 396-403.
- Balows, A., Truper, H.G., Dworkin, M., Harder, W. dan Schleifer K.H., 1992. *The Prokaryotes; volume III*. Edisi ke-2. Springer-Verlag, New York.
- Balows, A., Truper, H.G., Dworkin, M., Harder, W. dan Schleifer K.H., 1992. *The Prokaryotes; volume IV*. Edisi ke-2. Springer-Verlag, New York.
- Bossert, I.D. dan Compeau, G.C., 1985. *Microbial Transformation and Degradation of Toxic Organic Chemicals*. Young, L.Y. dan Gerniglia, C.E. (pnyt). Wiley-Liss, New York.
- Buscot, F. dan Varma, A., 2005. *Microorganisms in Soils: Roles in Genesis and Functions*. Springer, Berlin.
- Chang Raymond, 2005 . *Chemistry* . Edisi ke-8 . McGraw-Hill, Boston.
- Calabrese, E. J. dan Kostecki, P. T., 1989. *Petroleum Contaminated Soils*. Lewis Publisher, Boca Raton.
- Dibble, J. T. dan Bartha, R., 1979. Effect of environmental parameters on the biodegradation of oil sludge. *Applied and Environmental Microbiology* **37** (4), 729-739.



- Dobbins, D. C., 1995. *Encyclopedia of Environmental Biology; volume 1*. Academic Press, New York.
- Eweis, J.B., Ergas, S.J., Chang, D.P.Y. dan Schroeder, E.D., 1998. *Bioremediation Principles*. McGraw-Hill, Boston.
- Facundo J. Márquez-Rocha, Vanessa Hernández-Rodríguez dan Ma. Teresa Lamela, 2001. Biodegradation of Diesel Oil in Soil by A Microbial Consortium. *Water, Air and Soil Pollution* **128**, 313-320.
- Gaylarde, C. C., 1990. Bioremediation of Polluted Soils. *Environmental Pollution* **59**, 227-239.
- Gottschalk, G., 1985. *Bacterial Metabolism*. Edisi ke-2. Springer-Verlag, New York.
- Hurst, C.J., Knudsen, G.R., McInerney, M.J., Stetzenbach, L.D. dan Walter, M.V., 1997. *Manual of Environmental Microbiology*. American Society of Microbiology, Washington.
- Jan Dirk van Elsas, Trevors, J.T. dan Wellington, E.M.H., 1997. *Modern Soil Microbiology*. Marcel Dekker, New York.
- Jobson, A., Cook, F. D. dan Westlake, D. W. S., 1972. Microbial Utilization of Crude Oil. *Applied Microbiology* **23** (6), 1082-1089.
- Laleh Yerushalmi, Sylvie Rocheleau dan Ruxandra Cimpoaia, 2003. Enhanced Biodegradation of Petroleum Hydrocarbon in Contaminated Soil. *Bioremediation Journal* **7** (1), 37-51.



- Maria Piedad Díaz, Grigson, S. J. W., Peppiat, C. J. dan Burgess, J. G., 2000. Isolation and Characterization of Novel Hydrocarbon-degrading Euryhaline Consortia from Crude Oil and Mangrove Sediments. *Marine Biotechnology* **2**, 522-532.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M. dan Parker, J., 2003. *Brock Biology of Microorganisms*. Prentice Hall, United States.
- McCoy, M. M., 2000. *Determination of the Presence of the Catabolic Alkane Monooxygenase Gene from Soil Microorganisms Isolated from Coastal Sand Dunes*. California Polytechnic State University, San Luis Obispo.
- Okerentugba, P. O. dan Ezeronye, O. U., 2003. Petroleum Degrading Potentials of Singles and Mixed Microbial Cultures Isolated from Rivers and Refinery Effluent in Nigeria. *African Journal of Biotechnology* **2** (9), 288-292.
- Raymond, R. L., Hudson, J. O. dan Jamison, V. W., 1976. Oil Degradation in Soil. *Applied and Environmental Microbiology* **31** (4), 522-535.
- Robert, E. R., 1998. *Remediation of Petroleum Contaminated Soils: Biological, Physical and Chemical Processes*. Lewis Publisher, Boca Raton.
- Rowell, D. L., 1994. *Soil Science: Methods and Application*. Longman, United Kingdom.
- Saadoun, I., 2004. Recovery of *Pseudomonas* spp. from chronically fuel oil-pollutes soils in Jordan and the study of their capability to degrade short chain alkanes. *World Journal of Microbiology and Technology* **20**, 43-46.
- Salomons, W. dan Stigliani, W.M., 1995. *Biogeochemistry of Pollutants in Soils and Sediments*. Springer, Berlin.



- Smith-Grenier, L.L. dan Adkins, A., 1996. Isolation and characterization of soil microorganism capable of utilizing the herbicide diclofop-methyl as a sole source of carbon and energy. *Canada Journal of Microbiology* **42**, 221-226.
- Suthersan, S. S., 1999. *Handbook of Bioremediation*. CRC Press, Boca Raton.
- Tortora, G.J. , Funke, B. R. dan Case, C.L., *Microbiology: An Introduction*. Edisi ke-8. Pearson, San Fransisco.
- Tate, R.L., 2000. *Soil Microbiology*. Edisi ke-2. John Wiley & Sons, New York.
- Tate, R.L. dan Klein, D.A., 1985. *Soil Reclamation Processes: Microbiological Analyses and Application*. Mcel Dekker, New York.
- Wyszkowska, J., Kucharski, J. dan Waldowska, E., 2000. The Influence of Diesel Oil Contamination on Soil Microorganisms and Oat Growth. *Rostlinná Výroba* **48** (2), 51-57.

