

Isolasi Bakteri Pendegradasi Minyak Solar Dari Perairan Teluk Pare-Pare

HASYIMUDDIN¹, M NATSIR DJIDE², M FARID SAMAWI³

¹Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Alauddin Makassar
Jl. Sultan Alauddin No. 36 Samata, Kab. Gowa, Sulawesi Selatan 92113

email: hasyimuddin@uin-alauddin.ac.id

²Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin
Jl. Perintis Kemerdekaan Km 10, Makassar, Sulawesi Selatan 90516

³Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Hasanuddin
Jl. Perintis Kemerdekaan Km 10, Makassar, Sulawesi Selatan 90516

ABSTRACT

This study aims to acquire the diesel oil degrading microbia in Pare-Pare port. This study was conducted at the Laboratory of Microbiology, Department of Biology, Faculty of Science and Technology, UIN Alauddin Makassar. The method is descriptive exploratory study. The data was analyzed by tables and graphs. The results showed that three isolates of bacteria isolated from the Pare-Pare Bay that can degrade diesel oil as *Bacillus* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, and *Alkaligenes faecalis*. *P. aeruginosa* is the best bacteria in degrading diesel oil.

Keywords: bacteria, biodegradation, diesel oil, Pare-Pare Bay

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh bakteri yang terdapat di Pelabuhan Pare-Pare yang mampu mendegradasi minyak solar. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar. Metode yang digunakan adalah penelitian deskriptif eksploratif. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif yang dilaporkan dalam bentuk tabel dan grafik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 3 isolat bakteri yang diisolasi dari Teluk Pare-Pare yang dapat mendegradasi minyak solar yaitu *Bacillus* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Alkaligenes faecalis*. Bakteri *P. aeruginosa* merupakan bakteri yang terbaik dalam mendegradasi minyak solar.

Kata kunci: bakteri, biodegradasi, minyak solar, Teluk Pare-Pare

PENDAHULUAN

Perairan Teluk Pare-Pare merupakan salah satu perairan yang memiliki potensi sumber daya laut yang tinggi. Apabila potensi itu dimanfaatkan semaksimal mungkin akan meningkatkan kesejahteraan masyarakat yang ada di sekitarnya. Namun dengan meningkatnya jumlah penduduk akan menyebabkan peningkatan aktivitas manusia baik di darat maupun di laut, seperti pelabuhan, pemukiman penduduk, pertamina, karantina hewan, kegiatan pasar, industri, dan kegiatan lainnya.

Pengendalian pencemaran dengan mikroba tengah berkembang dan berpotensi di masa mendatang karena teknologinya yang ramah lingkungan (mengurangi dampak

penggunaan bahan kimia). Pada lingkungan yang telah lama tercemar serta kolam pengolahan limbah dimungkinkan terdapat bakteri pendegradasi minyak tersebut secara alamiah, bersaing maupun berkonsorsia dengan mikroorganisme lainnya (Suyasa, 2006).

Pencemaran air adalah masuk atau dimasukkannya makhluk hidup, zat, energi dan atau komponen lain ke dalam air dan atau berubahnya tatanan air oleh kegiatan manusia atau proses alam sehingga kualitas air turun sampai ketingkat tertentu yang menyebabkan air kurang atau tidak dapat lagi berfungsi sesuai dengan peruntukannya (Menteri Sekretaris Negara, 2009). Limbah minyak adalah buangan yang berasal dari hasil

eksplorasi produksi minyak, pemeliharaan fasilitas produksi, fasilitas penyimpanan, pemrosesan, dan tangki penyimpanan minyak pada kapal laut.

Akibat jangka panjang dari pencemaran minyak adalah terutama bagi biota laut yang masih muda. Minyak di dalam laut dapat termakan oleh biota-biota laut. Sebagian senyawa minyak dapat dikeluarkan bersama-sama makanan, sedang sebagian lagi dapat terakumulasi dalam senyawa lemak dan protein. Sifat akumulasi ini dapat dipindahkan dari organisme satu ke organisme lain melalui rantai makanan. Jadi, akumulasi minyak di dalam zooplankton dapat berpindah ke ikan pemangsanya. Demikian seterusnya bila ikan tersebut dimakan ikan yang lebih besar, hewan-hewan laut lainnya, dan bahkan manusia (Misran, 2002).

Bakteri merupakan suatu struktur sel yang tidak mempunyai inti sejati (inti yang tidak dikelilingi membran inti), sedangkan komponen genetiknya terdapat di dalam molekul DNA tunggal yang letaknya bebas di dalam sitoplasma (Ali, 2005)

Bakteri merupakan organisme kosmopolit yang dapat kita jumpai di berbagai tempat dengan berbagai kondisi di alam ini. Mulai dari padang pasir yang panas, sampai kutub utara yang beku kita masih dapat menjumpai bakteri. Namun bakteri juga memiliki batasan suhu tertentu dia bisa tetap bertahan hidup.

Bioremediasi adalah proses pembersihan pencemaran tanah dengan menggunakan mikroorganisme. Bioremediasi bertujuan untuk memecah atau mendegradasi zat pencemar menjadi bahan yang kurang beracun atau tidak beracun (karbondioksida dan air).

Secara sederhana proses bioremediasi bagi lingkungan dapat dilakukan dengan mengaktifkan bakteri alami pengurai limbah baik organik maupun anorganik yang akan ditangani. Bakteri-bakteri akan menguraikan limbah tersebut yang telah sedemikian rupa sehingga sesuai dengan kebutuhan hidup bakteri tersebut. Dalam waktu tertentu, bakteri yang telah ditebarkan pada lingkungan yang terkontaminasi tersebut akan menunjukkan bahwa kandungan limbah di

lingkungan tersebut mulai berkurang bahkan hilang (Utami, 2010).

METODE

Teknik pengambilan sampel. Lokasi penelitian adalah perairan Teluk Pare-Pare dengan tiga stasiun pengambilan sampel yaitu Dermaga Nelayan, Pelabuhan Nusantara Pare-Pare dan Pelabuhan Depot Pertamina Pare-Pare

Pada tiap stasiun diambil tiga titik yang ditentukan berdasarkan posisi keterwakilan areal pelabuhan. Sementara pengujian sampel dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.

Sterilisasi alat. Alat-alat yang terbuat dari gelas disterilkan dengan menggunakan oven pada suhu 180°C selama 2 jam. Sebelumnya alat tersebut dibungkus dengan kertas. Alat yang tidak tahan panas/ suhu yang terlalu tinggi disterilkan dengan menggunakan otoklaf pada suhu 121°C, pada tekanan 2 atm selama 15 menit, sedangkan alat yang terbuat dari aluminium disterilkan dengan menggunakan pijar api.

Pembuatan medium *Stone Mineral Salt Solution* (SMSSe). Semua bahan medium *Stone Mineral Salt Solution* (SMSSe) dilarutkan dalam 1000 ml air suling. Ke dalam medium tersebut ditambahkan minyak solar sebanyak 2% (v/v) sebagai sumber karbon, mengatur pH menjadi 6,5 dengan menggunakan NaOH 1% atau HCl 1%. Kemudian medium dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer dan disterilisasi dengan menggunakan otoklaf pada suhu 121°C pada tekanan 2 atm selama 15 menit (Nababan, 2008).

Isolasi bakteri. Isolasi didahului dengan memasukkan sampel air laut yang terkena tumpahan minyak sebanyak 2% (v/v) ke dalam medium SMSSe kemudian dikocok dengan shaker selama 3 hari dengan kecepatan 120 rpm (Nababan, 2008). Sampel kemudian diisolasi dengan metode pengenceran sampai 10^{-5} dengan menggunakan NaCl fisiologis steril dan dibiakkan dalam lempeng agar medium SMSSe dengan metode cawan tuang lalu diinkubasi selama 48 jam pada suhu

35°C. Setiap koloni yang berbeda dimurnikan kembali pada medium padat yang serupa.

Pengamatan koloni bakteri.

Pengamatan morfologi dilakukan dengan dua cara yaitu pengamatan Koloni dan pewarnaan Gram. Pengamatan koloni dilakukan secara langsung terhadap isolat untuk melihat penampakan koloni berupa bentuk, tekstur, warna dan elevasi. Sedangkan pengecatan Gram dilakukan untuk melihat bentuk-bentuk sel bakteri dan untuk mengetahui golongan bakteri dari isolat yang dihasilkan. Pengamatan kemudian dilanjutkan dengan uji biokimia untuk menentukan jenis isolat bakteri yang diperoleh.

Uji kemampuan isolat bakteri dalam mendegradasi minyak solar. Masing-masing isolat bakteri yang telah dimurnikan sejumlah 10^5 sel/ml, diambil 1 ml lalu ditambahkan ke dalam medium SMSSe cair (150 ml) yang mengandung minyak solar 1% (1,5 ml), 2% (3 ml) dan 3% (4,5 ml) secara terpisah. Kultur diinkubasi pada suhu ruang dan digoyang di atas *shaker* dengan kecepatan 120 rpm, lalu dilakukan estimasi kepadatan bakteri pada

hari ke-1, 3, 5 dan 7.dengan metode Standart Plate count (SPC) untuk menghitung jumlah koloni bakteri. Perlakuan yang sama juga dilakukan pada kontrol namun perlakuan ini tidak menggunakan isolat bakteri.

Analisis data. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif yang dilaporkan dalam bentuk tabel dan grafik. Sampel dianalisis dengan menghitung laju pertumbuhan bakteri yang tumbuh pada medium yang diujikan.

Rumus untuk menentukan jumlah koloni bakteri dengan metode Standart Plate Count (SPC) adalah:

Faktor pengencer (Fa) = Pengenceran x Jumlah sampel

Jumlah koloni per ml = Jumlah koloni per cawan x 1/F

Keterangan:

Fa = Faktor pengencer

Pengenceran = Tingkat pengenceran yang dilakukan

Jumlah sampel = Jumlah sampel yang diuji

Jumlah koloni per ml = Jumlah koloni dalam setiap 1 ml sampel

HASIL

Tabel 1. Morfologi koloni bakteri pendegradasi minyak solar yang diisolasi dari perairan Teluk Pare-Pare

No	Isolate	Warna	Bentuk	Tepi	Elevasi	Permukaan
1	ISL 1	Kuning	Irregular	Lobate	Raised	Kasar
2	ISL 2	Putih	Circular	Serrate	Flat	Kasar
3	ISL 3	Bening	Filamentous	Felamentous	Flat	Kasar



ISL 1



ISL 2



ISL 3

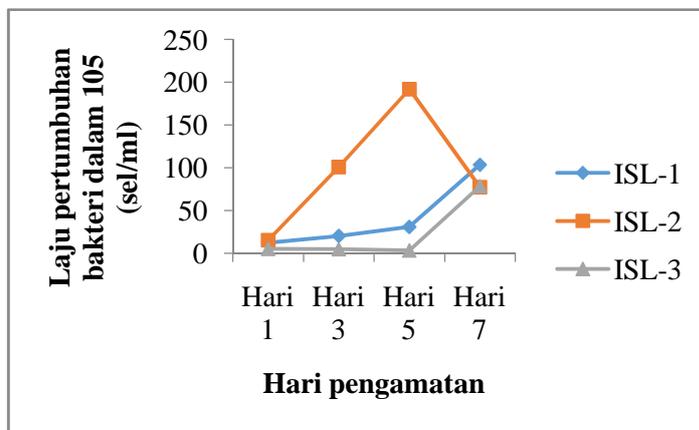
Gambar 1. Isolat bakteri pendegradasi minyak bumi yang diisolasi dari Teluk Pare-Pare

Tabel 2. Karakteristik sel bakteri setelah pewarnaan Gram

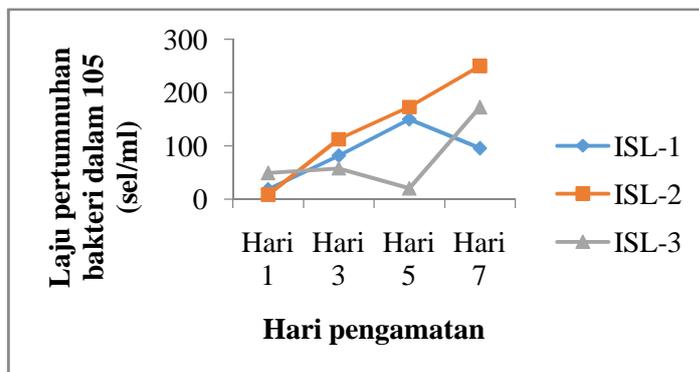
Isolat	Bentuk	Gram	Bentuk endospora
ISL-1	Batang	Positif	Elips
ISL-2	Batang	Negatif	Tidak ada
ISL-3	Batang	Negatif	Tidak ada

Tabel 3. Uji biokimia isolat pendegradasi minyak solar yang diisolasi dari perairan Teluk Pare-Pare

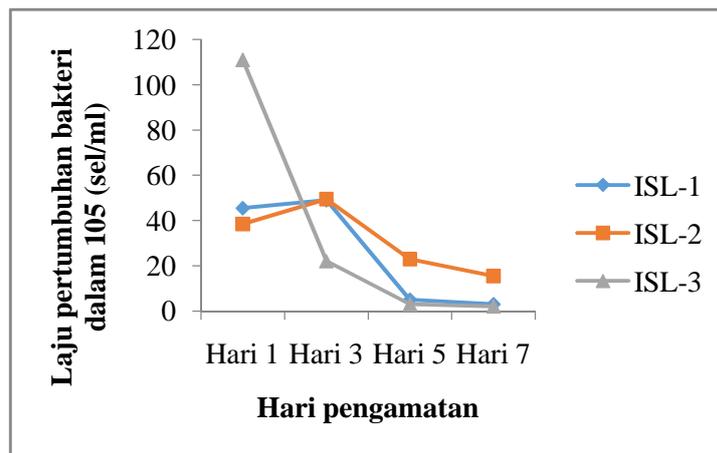
NO	ISL-1	ISL-2	ISL-3
MRVP	-/-	-/-	-/-
Cimon citrat	-	+	-
Urea	-	+	-
LIA	+	+	-
PAD	-	-	-
Malonat	-	-	-
Glukosa	+	+	-
H ₂ S	-	-	-
Laktosa	-	-	-
Maltosa	-	-	-
Sukrosa	+	-	-
Oksidasi Fermentatif	-	-	-
Katalase	+	+	+
Oksidase	+	+	+
	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Alkaligenes faecalis</i>



Gambar 2. Laju pertumbuhan isolat bakteri pada konsentrasi minyak 1% pada pengenceran 10⁻⁵



Gambar 3. Laju pertumbuhan isolat bakteri pada konsentrasi minyak 2% pada pengenceran 10⁻⁵



Gambar 4. Laju pertumbuhan isolat bakteri pada konsentrasi minyak 3% pada pengenceran 10^{-5}

PEMBAHASAN

Hasil isolasi yang dilakukan pada tiga lokasi berbeda yakni Pelabuhan Nusantara Pare-Pare, Pelabuhan Depot Pertamina Pare-Pare dan pelabuhan nelayan, diperoleh 3 jenis bakteri pendegradasi minyak solar yang berbeda berdasarkan pengamatan morfologi meliputi pengamatan warna, bentuk, tepi, elevasi koloni dan permukaan sel. Adapun perbedaan bakteri dari segi morfologi disajikan pada Tabel 1.

Berdasarkan Tabel 1 tersebut, koloni bakteri yang tumbuh pada medium minimal setelah diinkubasi selama 48 jam terdapat empat jenis yang diketahui berdasarkan ciri-ciri morfologi yang dimiliki koloni tersebut. Koloni 1 ditandai dengan bentuk tidak teratur (*irregular*), pinggirannya *lobate*, permukaannya kasar, bentuk elevasinya agak cembung (*raised*) dan berwarna kuning. Koloni 2 ditandai dengan bentuk yang juga teratur (*circular*) dengan pinggirannya berbentuk gerigi (*serrate*) permukaannya rata (*flat*) dan kasar, berwarna putih. Sedangkan koloni 3 ditandai dengan bentuk seperti filamen-filamen (*filamentous*), tepi atau pinggirannya pun berbentuk seperti filamen-filamen, permukaan kasar dan elevasi rata (*flat*) serta warna yang bening.

Isolat ISL 1 didapatkan tumbuh pada setiap sampel yang diuji, isolat ISL 2 diperoleh paling banyak tumbuh di pelabuhan Depot Pertamina Pare-Pare, sedangkan isolat ISL 3 diperoleh dari pelabuhan Nusantara Pare-Pare dan pelabuhan nelayan. Perbedaan

jenis bakteri yang tumbuh pada setiap lokasi ini kemungkinan dipengaruhi oleh faktor lingkungan di sekitarnya. Bakteri melakukan adaptasi terhadap lingkungan sehingga mempengaruhi bentuk morfologi serta struktur anatomi dari bakteri tersebut untuk mempertahankan hidupnya.

Pengujian kemudian dilanjutkan dengan pewarnaan gram dan uji biokimia untuk mengetahui jenis dari bakteri yang berhasil diisolasi. Hasil dari uji pewarnaan gram dan uji biokimia disajikan pada Tabel 2 dan 3

Berdasarkan hasil karakteristik, pewarnaan gram dan uji biokimia maka didapatkan isolat ISL-1 adalah *Bacillus* sp., isolat ISL-2 adalah *Pseudomonas aeruginosa* dan isolat ISL-3 adalah *Alkaligenes fecalis*.

Uji kemampuan isolat bakteri dalam mendegradasi minyak solar. Sebanyak 3 isolat bakteri pendegradasi minyak solar yang telah diisolasi dan diseleksi selanjutnya dilakukan pengujian kemampuan isolat tersebut dalam mendegradasi minyak solar. Pertumbuhan sel isolat bakteri masing-masing perlakuan dihitung dengan cara SPC dengan menggunakan *colony counter* dengan pengenceran 10^{-5} pada hari ke-1, ke-3, ke-5 dan ke-7. Pertumbuhan isolat bakteri yang ditumbuhkan pada medium minimal cair mengandung minyak solar 1%, 2% dan 3% bervariasi dari setiap koloni. Hasil pertumbuhan bakteri setelah diuji disajikan dalam Gambar 2, 3 dan 4:

Secara umum pertumbuhan bakteri merupakan hasil penggandaan sel, sehingga

pertumbuhan bakteri lebih sering dinyatakan sebagai reproduksi sel. Bakteri melakukan penggandaan pembelahan diri secara teratur melalui pertumbuhan eksponensial, yaitu laju pembelahan sel meningkat dengan bertambahnya waktu pertumbuhan (Ali, 2005).

Pada Gambar 2, 3 dan 4 terlihat bahwa pertumbuhan dari setiap isolat yang ditumbuhkan pada medium yang mengandung minyak solar selama tujuh hari memperlihatkan pertumbuhan yang beragam. Isolat 2 mengalami pertumbuhan yang tinggi pada setiap konsentrasi minyak yang diujikan, ini menunjukkan bahwa isolat bakteri tersebut dapat tumbuh pada daerah yang mengandung minyak dan menggunakan minyak tersebut sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan.

Pertumbuhan bakteri tertinggi terjadi pada Isolat 2. Angka tertinggi terjadi pada konsentrasi minyak 2% pada hari ke-7 yakni sebesar 250×10^5 sel/mL. Pada konsentrasi minyak 1% isolat 2 mencapai titik sasioner pada hari ke-5 yaitu sebesar 192×10^5 sel/mL, sedangkan pada konsentrasi 3% isolat ke-2 mencapai titik maksimum pada hari ke-3 sebesar $49,50 \times 10^5$ sel/mL.

Dari beberapa konsentrasi minyak yang diujikan, konsentrasi minyak 2% merupakan konsentrasi yang paling baik. Terlihat dari setiap isolat bakteri yang diujikan memperlihatkan pertumbuhan yang baik. Pada konsentrasi nutrien yang amat minim atau terlalu tinggi, maka laju pertumbuhan mikrobia secara proporsional akan menurun. Pada konsentrasi minyak 3% terlihat laju pertumbuhan yang cenderung menurun. Hal ini karena konsentrasi yang tinggi dapat mempengaruhi kerja enzim yang dihasilkan oleh bakteri sehingga bakteri tidak dapat berkembang dengan baik (Ali, 2005).

Kemampuan bakteri mendegradasi minyak solar disebabkan karena bakteri menghasilkan enzim yang mampu memecah senyawa organik kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana. Enzim monooksigenase dan enzim dioksigenase yang dihasilkan oleh

bakteri mampu membuka ikatan karbon pada cincin aromatik dan menghasilkan alkohol primer. Enzim dioksigenase yang dihasilkan oleh bakteri mendegradasi PAH dan membentuk cis-dihidrodiol. Senyawa ini kemudian didehidrogenasi untuk membentuk dihidroksi-PAH yang merupakan substrat untuk enzim membuka cincin. Melalui pemberian satu molekul oksigen maka enzim monooksigenase juga dapat mendegradasi PAH dan membentuk arene oksida, selanjutnya molekul-molekul ini akan digunakan oleh mikroba sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhan dan energi.

KESIMPULAN

Diperoleh 3 isolat bakteri yang diisolasi dari Teluk Pare-Pare yang dapat mendegradasi minyak solar yaitu *Bacillus* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Alkaligenes faecalis*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali A. 2005. Mikrobiologi Dasar. Makassar: Universitas Negeri Makassar Press.
- Misran E. 2002. Aplikasi Teknologi Berbasis Membrandalam Bidang Bioteknologi Kelautan: Pengendalian Pencemaran. Medan: Fakultas teknik Program Studi Teknik Kimia Universitas Sumatera Utara.
- Mensesneg-RI. PP No 19 Tahun 1999 tentang Pengendalian Pencemaran dan atau Perusakan Laut. Jakarta
- Nababan B. 2008. Isolasi dan Uji Potensi Bakteri Pendegradasi Minyak Solar Dari Laut Belawan. Medan: Sekolah Pascasarjana Universitas Sumatera Utara.
- Suyasa B. 2006. Isolasi bakteri pendegradasi minyak/lemak dari beberapa sedimen perairan tercemar dan bak penampung limbah. Bali: Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Udayana.
- Utami AAW. 2010. Pengelolaan Kualitas Lingkungan Bioremediasi Minyak Bumi. Banjar Baru: Fakultas Teknik Universitas Lambung Mangkurat.