

## UJI KEMAMPUAN DEGRADASI MINYAK SOLAR OLEH KONSORSIUM BAKTERI HASIL PRESERVASI DENGAN KOMBINASI METODE LIOFILISASI DAN METODE GLISEROL

N. P. Ristiati<sup>1\*</sup>, Sanusi M<sup>2</sup>, & I M. G. P. Putra<sup>3</sup>

Jurusan Pendidikan Biologi Universitas Pendidikan Ganesha, Singaraja

Email: puturistiati@gmail.com

### Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui: (1) perbedaan kadar Asam *n*-Oktanoat yang dihasilkan oleh konsorsium bakteri pendegradasi minyak solar hasil preservasi, (2) volume konsorsium bakteri hasil preservasi yang optimum dalam menghasilkan Asam *n*-Oktanoat, dan (3) genus bakteri hidrokarbonoklastik yang mampu bertahan hidup setelah masa preservasi. Penelitian eksperimental ini menggunakan rancangan *the randomized posttest only control group design* dengan 8 kali pengulangan pada kelompok perlakuan volume 10 ml, 20 ml, dan 30 ml konsorsium bakteri pendegradasi minyak solar. Populasi penelitian ini adalah konsorsium bakteri pendegradasi minyak solar hasil preservasi menggunakan kombinasi metode liofilisasi dan metode gliserol. Sampel penelitian adalah cuplikan 5 ml media degradasi minyak solar dari masing-masing unit percobaan. Analisis data menggunakan Uji Anava satu arah dengan taraf signifikansi 5%. Berdasarkan hasil analisis data diperoleh  $F_{hitung} (32,615) < F_{tabel} (3,466)$  dan nilai signikansi  $0,000 < 0,05$ . Hal ini menunjukkan bahwa ada perbedaan kadar Asam *n*-Oktanoat yang dihasilkan oleh konsorsium bakteri pendegradasi minyak solar hasil preservasi. Volume 30 ml konsorsium bakteri pendegradasi minyak solar hasil preservasi adalah volume optimum dalam menghasilkan Asam *n*-Oktanoat. berdasarkan hasil identifikasi isolat bakteri, ditemukan empat genus bakteri, yaitu: Neisseria (isolat A dan D), Pseudomonas (isolat B dan E), Acinetobacter (isolat C), dan Halomonas (isolat F).

*Kata-kata Kunci: konsorsium, bakteri pendegradasi solar, Asam n-Oktanoat*

### Abstract

The purpose of this study was to know: (1) differences of *n*-octanoic acid level produced by *an*-after period of preservation bacteria consortium to degrade petroleum diesel, (2) the optimum volume of *an*-after period of preservation bacteria consortium in producing *n*-octanoic acid, and (3) genus of hydrocarbonoclastic bacteria were able to survive after the period of preservation. This experimental research design was the randomized posttest-only control group design with eight replication in three treatment groups from consortium of diesel oil degrading bacteria volume. The population was *an*-after period preservation diesel oil degrading bacteria consortium using combination of lyophilization method and glycerol method, while sample is a snippet of 5 ml of fuel oil degradation medium from each experiment unit. Data analysis using One Way Anova test with significance level of 5%. Based on the data analysis obtained  $F_{hitung} (32.615) < F_{tabel} (3.466)$  and significance  $0,000 < 0,005$  shows that there are significant differences in levels of *n*-octanoic acid that produced by *an*-after period of diesel oil degrading bacteria consortium. 30 ml of *an*-after period preservation of diesel oil degrading bacteria consortium is the optimum volume in producing *n*-octanoic acid. The observations of secondary data found that there are four genus of six bacterial isolates, such as: Neisseria (A and D isolates), Pseudomonas (B and E isolates), Acinetobacter (C isolate), and Halomonas (F isolates).

*Keywords: consortium, diesel degrading bacteria, n-octanoic acid*

## 1. Pendahuluan

Indonesia dikenal sebagai negara bahari dan kepulauan terbesar di dunia. Kendari demikian, dengan wilayah laut yang luas, tumpahan minyak bumi dapat terjadi oleh karena lalu lintas dan bongkar muat kapal, proses eksplorasi, dan produksi minyak sebagai sumber energi di laut. Tumpahan minyak tersebut merupakan polutan yang dapat mengganggu ekosistem pada wilayah yang terkontaminasi.

Upaya untuk mengatasi pencemaran limbah minyak adalah dengan cara fisik (dengan *oil skimmer*), kimia (dengan penggunaan dispersan), dan biologi (dengan biodegradasi) (Silvia, 2010). Biodegradasi merupakan upaya rehabilitasi lingkungan yang tercemar oleh minyak bumi dengan memanfaatkan aktivitas bakteri untuk menguraikan minyak menjadi bentuk lain yang sederhana, tidak berbahaya, dan memiliki nilai tambah bagi lingkungan (Nababan, 2008).

Senyawa hidrokarbon minyak bumi banyak dimanfaatkan oleh mikroorganisme dalam proses metabolismenya. Proses oksidasi hidrokarbon oleh bakteri dan *fungi* banyak membantu proses dekomposisi minyak dan produk minyak. Biodegradasi polutan suatu lingkungan merupakan proses kompleks yang bergantung pada kondisi lingkungan, jumlah polutan, dan komposisi komunitas mikroorganisme lokal (*indigenous*). Mikroorganisme tersebut dalam proses biodegradasi bekerja secara konsorsium (Komarawidjaja dan Esi, 2009).

Konsorsium mikroorganisme khususnya bakteri terdiri atas beberapa jenis bakteri dalam suatu lingkungan tertentu. Oleh karena itu, sebelum dilakukan proses biodegradasi di lapangan, tahap awal yang harus dilakukan adalah melakukan isolasi terhadap bakteri *indigeneous* dari area yang telah tercemar minyak bumi (Komarawidjaja, 2009).

Guna menyimpan konsorsium bakteri, agar tahan lama dan dapat digunakan ketika terjadi pencemaran minyak bumi di perairan, dapat dilakukan teknik dengan pengkoleksian dan

preservasi. Tujuan preservasi meliputi jangka pendek dan jangka panjang. Preservasi jangka pendek dilakukan untuk keperluan rutin penelitian yang disesuaikan dengan kegiatan program tertentu. Sementara itu, preservasi jangka panjang dilakukan untuk koleksi dan konservasi plasma nuftah mikroorganisme (Machmud, 2001).

Selama ini, koleksi dan preservasi mikroorganisme yang sering digunakan adalah metode liofilisasi dan metode gliserol. Penelitian lebih lanjut terhadap pengembangan kedua metode preservasi tersebut telah dilaksanakan dengan melaksanakan kombinasi metode liofilisasi dan metode gliserol. Pengembangan ini perlu dilakukan mengingat isolat bakteri sangat bergantung pada ketersediaan nutrisi dalam media preservasi sehingga bakteri dapat tumbuh dengan optimal dan memiliki viabilitas yang tinggi.

Pada bagian utara Provinsi Bali, lokasi lingkungan perairan yang berpotensi mengalami pencemaran minyak bumi khususnya minyak solar adalah area pelabuhan. Pelabuhan Celukan Bawang yang terletak di Kecamatan Gerokgak merupakan pusat bongkar muat barang. Lalu lintas kapal yang berlabuh dan berangkat dari pelabuhan ini cukup banyak, sehingga buangan limbah bahan bakar kapal berpotensi menyebabkan pencemaran di perairan laut sekitar.

Uji pendahuluan telah dilaksanakan melalui preservasi konsorsium bakteri pendegradasi minyak solar dari perairan laut Celukan Bawang menggunakan kombinasi metode liofilisasi dan metode gliserol. Uji pendahuluan mendapatkan hasil bahwa konsorsium bakteri mampu bertahan hidup pada media preservasi dengan metode yang dikombinasikan.

Berdasarkan hasil uji pendahuluan, maka perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan melakukan uji kemampuan degradasi konsorsium bakteri hasil preservasi. Pada uji ini dilakukan variasi volume konsorsium bakteri pendegradasi minyak bumi hasil

preservasi kombinasi metode liofilisasi dan metode gliserol.

Tujuan penelitian ini, yaitu: (1) mengetahui perbedaan kadar Asam *n*-Oktanoat yang dihasilkan oleh konsorsium bakteri pendegradasi minyak solar hasil preservasi kombinasi metode liofilisasi dan gliserol, (2) mengetahui volume konsorsium bakteri hasil preservasi kombinasi metode liofilisasi dan gliserol yang optimum dalam menghasilkan Asam *n*-Oktanoat sebagai hasil biodegradasi minyak solar, (3) mengetahui genus bakteri pendegradasi minyak solar yang mampu bertahan hidup setelah masa preservasi.

## 2. Metode

Rancangan penelitian ini merupakan eksperimen sungguhan (*true experimental*). Rancangan penelitian eksperimen yang digunakan adalah *the randomized posttest only control group design* (Bawa, 2000). Populasi pada penelitian ini adalah konsorsium bakteri pendegradasi minyak solar hasil preservasi menggunakan kombinasi metode liofilisasi dan metode gliserol selama tiga bulan pada suhu  $-5^{\circ}\text{C}$  pada media *Bushnell-Haas mineral salt agar*. Sampel pada penelitian ini adalah cuplikan 5 ml media degradasi minyak bumi dari masing-masing variasi volume konsorsium bakteri setelah masa inkubasi. Perlakuan yang diberikan dalam penelitian ini adalah penambahan konsorsium bakteri pendegradasi minyak solar dengan variasi volume berbeda, yang terdiri dari tiga level/ taraf yaitu: 10 ml, 20 ml, dan 30 ml konsorsium bakteri hasil preservasi menggunakan metode liofilisasi dan metode gliserol.

Jumlah ulangan sebanyak 8 kali berdasarkan rumus pengulangan rancangan acak lengkap (RAL):

$$t(r-1) \geq 20 \dots\dots\dots (1)$$

dimana t: perlakuan dan r: replikasi. Unit percobaan pada tiap perlakuan berjumlah 8. Jumlah seluruh unit percobaan yakni 24 unit. 24 buah wadah botol kaca steril berisi 20 ml media degradasi minyak solar (*Bushnell-Haas mineral salt broth* dengan penambahan *skim milk powder* dan gliserol) yang diberi 5 ml minyak solar

sebagai media degradasi selama masa inkubasi 10 x 24 Jam.

Pada penelitian ini digunakan tiga variabel, yaitu: (1) variabel bebas berupa volume konsorsium bakteri pendegradasi minyak solar hasil preservasi kombinasi metode liofilisasi dan metode gliserol. variasi volume konsorsium bakteri yang digunakan yakni 10 ml, 20 ml, dan 30 ml dalam 20 ml media degradasi minyak solar, (2) variabel terikat yang diukur adalah kadar Asam *n*-Oktanoat hasil biodegradasi minyak solar. Kadar Asam *n*-Oktanoat yang dihasilkan diperoleh dengan menggunakan rumus:

$$n. M_1. V_1 = n. 2. V_2 \dots\dots\dots (2)$$

(Keenan, 2001)

an (3) variabel kontrol selama penelitian berlangsung adalah suhu, oksigen, nutrisi, pH, dan kelembaban.

Data yang telah terkumpul pada akhir penelitian selanjutnya ditabulasi dalam tabel kerja. Data kemudian diuji dengan menggunakan uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* dan *Levene test* untuk uji homogenitas. Apabila dari uji prasyarat tersebut diperoleh data yang normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan analisis parametrik dengan menggunakan uji Anava satu arah pada taraf signifikansi 5%. Setelah itu, dilakukan uji perbandingan ganda *Post Hoc* antar kelompok untuk menguji kelompok mana yang berbeda dengan kelompok yang mana, dengan menggunakan uji *least significance difference* (LSD) (untuk data yang variannya homogen). Dalam percobaan ini digunakan signifikansi 0,05.

## 3. Hasil Dan Pembahasan

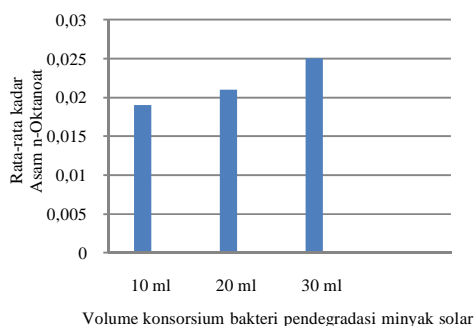
Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diketahui bahwa konsorsium bakteri hasil preservasi menggunakan kombinasi metode liofilisasi dan metode gliserol mampu mendegradasi minyak solar. Hasil penelitian menunjukkan rerata kadar Asam *n*-Oktanoat yang paling banyak dihasilkan pada perlakuan penambahan 30 ml konsorsium bakteri (0,025 M), kemudian sampai paling sedikit berturut-turut pada perlakuan 20

ml konsorsium bakteri (0,021 M), dan 10 ml konsorsium bakteri (0,019 M).

Berdasarkan hasil uji hipotesis menggunakan uji anava satu arah didapatkan nilai signifikansi ( $p$ )  $0,000 < 0,05$  dan  $F_{hitung} (32,615) > F_{tabel} (3,466)$ , sehingga  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima. Hal ini menunjukkan ada perbedaan kadar Asam  $n$ -Oktanoat yang dihasilkan oleh konsorsium bakteri pendegradasi minyak solar hasil preservasi menggunakan kombinasi metode liofilisasi dan metode gliserol.

Tabel 1. Kadar Asam  $n$ -Oktanoat (M) yang dihasilkan masing-masing kelompok perlakuan volume konsorsium bakteri pendegradasi minyak solar hasil preservasi menggunakan kombinasi metode liofilisasi dan metode gliserol selama tiga bulan

Ulangan	Kadar Asam $n$ -Oktanoat dari Perlakuan Volume Konsorsium Bakteri Pendegradasi Minyak Solar Hasil Preservasi		
	10 ml	20 ml	30 ml
I	0,021	0,021	0,026
II	0,018	0,020	0,023
III	0,018	0,023	0,027
IV	0,020	0,020	0,024
V	0,016	0,021	0,024
VI	0,020	0,020	0,026
VII	0,019	0,022	0,026
VIII	0,020	0,024	0,024
Total	0,152	0,171	0,200
Rata-rata	0,019	0,021	0,025



Gambar 1. Rata-rata kadar Asam  $n$ -Oktanoat yang dihasilkan oleh konsorsium bakteri pendegradasi minyak solar hasil preservasi menggunakan kombinasi metode liofilisasi dan metode gliserol selama tiga bulan

Isolat dari konsorsium bakteri pendegradasi minyak solar hasil preservasi ditumbuhkan pada media *Bushnell-Haas mineral salt agar*. Selanjutnya diamati secara makroskopis serta dilakukan serangkaian uji mikroskopis dan uji biokimia untuk mengetahui karakteristik bakteri tersebut. Setelah dilaksanakan serangkaian pengamatan dan uji, maka diperoleh genus bakteri hidrokarbonoklastik pendegradasi minyak solar.

Pengamatan biodegradasi minyak solar dilakukan dengan mengamati perubahan yang terjadi pada media degradasi, seperti perubahan warna, tingkat kekeruhan, pH, dan misel-misel yang terbentuk. Berdasarkan hasil pengamatan, terlihat bahwa pada hari pertama (1 x 24 jam) keadaan pada kelompok perlakuan masih sama dengan keadaan saat diinokulasikan konsorsium bakteri, yakni media masih tampak bening kekuningan, belum menunjukkan adanya kekeruhan, lapisan minyak terlihat jelas di permukaan, dan pH berada pada kisaran 5. Pada pengamatan 2 x 24 jam, telah muncul sedikit misel di lapisan bawah minyak solar pada kelompok perlakuan 30 ml konsorsium bakteri dan peningkatan pH menjadi 6. Selain itu, tidak terlihat adanya perubahan pada media degradasi kelompok perlakuan lainnya. Pada pengamatan 3 x 24 jam sebagian besar sampel uji mengalami peningkatan jumlah misel pada permukaan media degradasi. Peningkatan kekeruhan media degradasi hanya terlihat pada kelompok perlakuan 30 ml konsorsium bakteri. Warna dan nilai pH media degradasi pada semua unit perlakuan menunjukkan kondisi yang sama dengan hari sebelumnya. Kekeruhan dan jumlah misel pada sebagian besar media degradasi unit percobaan menunjukkan peningkatan yang signifikan pada hari keempat hingga hari ketujuh. Perubahan warna media degradasi terlihat jelas pada pengamatan 8 x 24 jam pada kelompok perlakuan 20 ml dan 30 ml. Perubahan warna media tersebut tidak diiringi dengan perubahan pH, namun dapat diamati adanya peningkatan kekeruhan dan jumlah misel yang signifikan pada permukaan media

degradasi. Pada pengamatan 9 x 24 jam, semua unit kelompok perlakuan menunjukkan perubahan warna menjadi kuning. Perubahan warna media degradasi menjadi kuning kecokelatan teramati pada pengamatan 10 x 24 jam. Hanya pada unit perlakuan 30 ml konsorsium bakteri. Tingkat kekeruhan dan jumlah misel pada media degradasi menunjukkan keadaan sama seperti hari kesembilan.

Perubahan pH media degradasi pada semua unit perlakuan pada akhir masa inkubasi menunjukkan kisaran angka 5. Setelah masa inkubasi dilaksanakan proses titrasi media degradasi minyak solar dengan menggunakan larutan NaOH yang telah distandardisasi. Pada proses titrasi ini digunakan indikator *fenolftalein* (PP). Volume NaOH yang digunakan pada saat titrasi mencerminkan kadar Asam *n*-Oktanoat yang dihasilkan selama proses degradasi hidrokarbon minyak solar.

#### **Kadar Asam *n*-Oktanoat Hasil Degradasi Minyak Solar**

Berdasarkan hasil penelitian, dapat diketahui bahwa kemampuan mendegradasi minyak solar berbanding lurus dengan kadar Asam *n*-Oktanoat yang dihasilkan oleh konsorsium bakteri. Asam *n*-Oktanoat merupakan derivat dari asam karboksilat yang merupakan hasil biodegradasi *n*-oktana yang banyak terdapat pada minyak bumi. Senyawa ini memiliki delapan atom karbon dan merupakan asam lemak jenuh rantai pendek (Yuanita dkk., 2007). Hasil penelitian menunjukkan volume konsorsium bakteri mempengaruhi kemampuan degradasi fraksi-fraksi hidrokarbon minyak solar. Zhu dkk. (2001) menyatakan bahwa biodegradasi minyak bumi di alam secara alamiah tidak hanya didegradasi oleh satu spesies namun juga melibatkan lebih dari satu mikroorganisme atau dikenal sebagai konsorsium. Adanya gabungan spesies mikroorganisme dalam hal ini bakteri, maka degradasi hidrokarbon akan lebih efektif. Jumlah mikroorganisme yang cukup akan menghasilkan banyak produk enzim tertentu yang lebih bervariasi dalam jenis dan tingkat penguraiannya

dibanding dengan biakan tunggal sehingga dapat mendegradasi minyak bumi dengan lebih cepat (Nugroho, 2006a).

Konsorsium bakteri juga diketahui merupakan isolat penghasil biosurfaktan yang terbesar. Hal ini menyebabkan tingkat degradasi minyak solar dengan menggunakan konsorsium jauh lebih cepat karena dengan dihasilkannya biosurfaktan memungkinkan senyawa hidrokarbon dapat lebih tersedia secara biologis terhadap mikroorganisme (Nababan, 2008). Selain itu, produksi biosurfaktan yang tinggi pada umumnya berkaitan erat dengan kemampuan bakteri dalam menguraikan senyawa hidrokarbon minyak bumi. Penambahan jumlah inokulum bakteri penghasil biosurfaktan diketahui dapat menaikkan tingkat degradasi dan menyebabkan terdegradasinya senyawa alifatik, senyawa aromatik, dan sikloalkana yang diketahui sulit terdegradasi (Jennings dan Tanner, 2000).

Secara umum, biodegradasi hidrokarbon minyak bumi oleh bakteri umumnya dilakukan dalam kondisi aerob. Degradasi secara aerob berlangsung lebih cepat dan lebih efektif dibandingkan dengan degradasi anaerob karena menggunakan energi yang lebih sedikit dengan jumlah energi yang lebih banyak dibandingkan reaksi anaerob (Malatova, 2005). Aktivitas biodegradasi minyak bumi terjadi secara intraselular dan diaktivasi oleh molekul oksigen melalui reaksi oksidasi yang menggunakan enzim oksigenase.

Oksigen merupakan salah satu faktor utama yang dibutuhkan dalam proses biodegradasi hidrokarbon yang melibatkan enzim oksigenase. Hal ini agar molekul hidrokarbon dapat digunakan sebagai sumber karbon oleh mikroorganisme untuk aktivitas metabolisme sel (Nugroho, 2006b). Silva dkk. (2006) melaporkan bahwa pada tahap awal inkubasi, senyawa alkana dan alifatik merupakan senyawa yang pertama kali terdegradasi. Hal ini dikarenakan senyawa tersebut memiliki rantai karbon

sederhana ( $C \leq 40$ ) sehingga lebih mudah teroksidasi dan terdegradasi.

Kemampuan konsorsium 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.

Lebih lanjut Fritsche dan Hofrichter (2000) dan Nugroho (2006b) menyatakan bahwa tahap awal biodegradasi hidrokarbon secara aerob dengan memasukkan molekul oksigen ke dalam hidrokarbon oleh enzim oksigenase, seperti *n*-alkana yang akan dioksidasi menggunakan enzim  $\omega$ -hidroksilase (oksigenase) yang terjadi pada gugus rantai C terminal (*peripheral*). Hasil oksidasi *n*-alkana akan membentuk alkohol primer. Alkohol akan diubah menjadi asam lemak maupun asam dikarboksilat melalui aldehyd yang melibatkan alkohol dehidrogenase dan aldehyd dehidrogenase. Asam lemak akan diubah membentuk senyawa intermediet berupa Asetil CoA melalui proses  $\beta$ -oksidasi. Asetil CoA akan memasuki siklus asam trikarboksilat di dalam sel mikroorganisme untuk menghasilkan  $CO_2$  dan  $H_2O$  serta energi untuk pertumbuhan mikroorganisme tersebut. Pada sebagian besar enzim monooksigenase, sebagai donor elektron adalah NADH atau NADPH, meskipun dalam prosesnya penggabungan molekul oksigen direduksi oleh NADH dan NADPH. Selain itu, terdapat dua protein terlarut, yaitu rubredoksin dan rubredoksin reduktase. Rubredoksin reduktase berperan dalam transpor elektron dari NADH ke rubredoksin dan membran yang mengikat alkana monooksigenase (Tontowi, 2008).

Sementara itu, dengan menggunakan dua molekul oksigen, enzim dioksigenase yang dihasilkan oleh bakteri mendegradasi *polycyclic aromatic hydrocarbon* (PAH) dan membentuk *cis*-Dihidrodiol. Senyawa ini kemudian dihidrogenasi untuk membentuk

dihidroksi-PAH yang merupakan substrat untuk enzim membuka cincin.

Atlas dan Bartha (1998) menyatakan bahwa senyawa aromatik banyak digunakan sebagai donor elektron secara aerob oleh mikroorganisme seperti bakteri dari genus *Pseudomonas*. Metabolisme senyawa ini oleh bakteri diawali pembentukan *catechol* atau *protocatechuat*. Senyawa tersebut selanjutnya didegradasi menjadi senyawa yang dapat masuk ke dalam siklus Krebs, yaitu asam suksinat, Asetil CoA, dan asam piruvat. Bakteri hidrokarbonoklastik tidak selalu mampu mendegradasi fraksi aromatik dalam minyak bumi dan juga memanfaatkan senyawa hasil metabolismenya sebagai sumber karbon. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan bakteri mendegradasi fraksi-fraksi hidrokarbon tergantung pada enzim yang dimilikinya (Aditiawati dkk., 2001).

### **Karakteristik Konsorsium Bakteri Pendegradasi Minyak Solar**

Berdasarkan hasil pengamatan makroskopis dan serangkaian uji mikroskopis dan biokimia, dapat diketahui bahwa dari keenam isolat dari konsorsium bakteri dapat diidentifikasi menjadi empat genus bakteri, yaitu *Neisseria* (isolat A dan D), *Pseudomonas* (isolat B dan E), *Acinetobacter* (isolat C), dan *Halomonas* (isolat F).

### **Perubahan Media Biodegradasi Minyak Solar**

Perubahan kepekatan warna media degradasi dapat menjadi petunjuk suatu proses biologis tengah berlangsung. Kepekatan warna dapat diakibatkan oleh melimpahnya biomassa sel serta terbentuknya metabolit-metabolit sekunder hasil perombakan suatu senyawa. Kekeruhan pada media yang diinokulasikan konsorsium bakteri menunjukkan adanya metabolit-metabolit sekunder hasil perombakan hidrokarbon minyak solar. Sementara itu, perubahan warna media degradasi terjadi karena konsorsium bakteri yang tumbuh menghasilkan pigmen yang larut dalam air. Jenis pigmen yang larut pada media

degradasi yang dihasilkan oleh konsorsium bakteri tersebut berupa *pyoverdin* yang dihasilkan oleh bakteri *Pseudomonas* (Ristiati 2013). Adanya perubahan kondisi media degradasi yang berbeda juga menunjukkan kemampuan dan aktivitas bakteri yang berbeda dalam mendegradasi hidrokarbon minyak bumi (Nugroho, 2007).

Degradasi oleh konsorsium bakteri akan mengubah komposisi minyak bumi menjadi fraksi ringan dalam minyak solar, akibatnya kerapatan massa (densitas) dan kekentalan (viskositas) minyak bumi akan semakin menurun. Chater dan Somerville (1978) melaporkan bahwa penurunan viskositas juga terjadi karena adanya produksi gas dan asam organik sebagai hasil degradasi yang larut dalam minyak. Penurunan densitas berbanding lurus dengan penurunan viskositas minyak solar. Hal ini terjadi karena perubahan komposisi bahan terlarut pada media degradasi akan meningkatkan volume minyak solar yang terpapar ke media degradasi. Penurunan viskositas dan densitas akan menyebabkan mobilitas minyak solar menjadi meningkat

Minyak solar yang semula menyatu dan membentuk lapisan di permukaan media degradasi secara perlahan terpecah menjadi butiran-butiran kecil. Terbentuknya butiran-butiran kecil tersebut disebabkan produksi biosurfaktan oleh bakteri. Biosurfaktan dapat membantu melepaskan senyawa hidrokarbon dalam senyawa organik dan meningkatkan konsentrasi senyawa hidrokarbon dalam media degradasi melalui pelarutan ataupun emulsifikasi (Gautam dan Tyagi, 2006). Peningkatan kelarutan senyawa hidrokarbon dalam media degradasi disebabkan oleh enzim *membrane-bound oxygenase* yang dihasilkan oleh bakteri untuk meningkatkan kontak secara langsung antara minyak solar dengan bakteri, sehingga bakteri dapat memanfaatkan minyak tersebut sebagai sumber karbon (Yani, 2011).

Biosurfaktan yang dihasilkan berperan dalam pembentukan emulsi minyak-media, sehingga dapat

dimanfaatkan oleh mikroorganisme petrofilik sebagai sumber karbon (Komarawidjaja, 2009). Lebih lanjut Zawawi (2005) menyatakan bahwa ada tiga kemungkinan peranan dari biosurfaktan yaitu: meningkatkan dan memperluas permukaan substansi hidrofobik, meningkatkan *bioavailability* substrat yang tidak larut air, dan mengatur *attachment-detachment* mikroorganisme menuju dan dari permukaan. Perubahan komposisi minyak solar yang tergedradasi akan meningkatkan volume minyak solar yang terpapar ke media degradasi. Penurunan viskositas dan densitas menyebabkan mobilitas minyak solar menjadi meningkat. Emulsi yang terjadi akan meningkatkan dispersi minyak bumi pada media degradasi (Syafrizal dkk., 2009).

Fluktuasi pH merupakan indikator yang dapat menentukan suatu proses biodegradasi telah terjadi atau tidak. Perubahan pH yang terjadi dalam media degradasi menunjukkan adanya aktivitas bakteri dalam merombak senyawa hidrokarbon. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pada proses awal degradasi minyak solar terjadi penurunan pH pada media degradasi, yaitu dari 7 menjadi 5, kemudian meningkat lagi dari 5 menjadi 6. pH media degradasi kembali turun sampai kisaran 5 pada akhir masa inkubasi.

Peningkatan pH yang terjadi selama masa inkubasi diduga oleh adanya kemampuan bakteri dalam melakukan respon toleransi asam dengan mekanisme pompa hidrogen. Beberapa bakteri diduga memiliki kemampuan melakukan upaya homeostasis terhadap keasaman lingkungan (Churcil dkk., 1995). Selain itu, peningkatan pH juga diduga karena adanya senyawa ester yang merupakan hasil samping dari proses degradasi dan akibat adanya penambahan nutrisi  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  dan  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  pada media degradasi minyak solar. Adanya senyawa  $\text{NO}_3$  sebagai sumber nitrogen akan menghasilkan  $\text{OH}^-$  sehingga terjadi peningkatan pH.  $\text{NO}_3^-$  oleh sel bakteri akan diubah ke dalam bentuk  $\text{NH}_4^+$  agar dapat digunakan. Hal tersebut dilakukan melalui pertukaran ion  $\text{K}^+$  dari dalam sel

dan menukarnya dengan ion  $H^+$  yang banyak terdapat di lingkungannya, sehingga keasaman lingkungan mengalami penurunan (Nugroho, 2006a). Peningkatan jumlah biosurfaktan menyebabkan terjadinya peningkatan pH. Semakin banyak biosurfaktan yang terbentuk maka pH akan semakin meningkat atau dapat dinyatakan bahwa laju biodegradasi akan meningkat seiring meningkatnya pH.

Penurunan nilai pH pada pertengahan masa inkubasi disebabkan oleh aktivitas metabolisme konsorsium bakteri selama proses degradasi hidrokarbon minyak bumi yang membentuk metabolit-metabolit asam. (Nugroho, 2008b) melaporkan bahwa biodegradasi alkana yang terdapat dalam minyak bumi akan membentuk alkohol dan selanjutnya menjadi asam lemak. Asam lemak hasil degradasi alkana akan dioksidasi lebih lanjut membentuk asam asetat dan asam propionat, sehingga dapat menurunkan nilai pH media degradasi minyak bumi. Setelah minyak bumi teremulsi hampir seluruhnya, pH akan terus menurun disebabkan oleh aktivitas bakteri yang membentuk metabolit-metabolit asam, terutama metabolit hasil degradasi hidrokarbon (Ristiati, 2013).

#### 4. Simpulan Dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat ditarik simpulan bahwa ada perbedaan kadar Asam *n*-Oktanoat yang dihasilkan oleh konsorsium bakteri pendegradasi minyak solar hasil preservasi menggunakan kombinasi metode liofilisasi dan metode gliserol. Volume 30 ml konsorsium bakteri pendegradasi minyak solar hasil preservasi menggunakan metode liofilisasi dan metode gliserol adalah volume yang optimum menghasilkan Asam *n*-Oktanoat dibandingkan variasi kelompok perlakuan volume 10 ml dan 20 ml konsorsium bakteri. Konsorsium bakteri pendegradasi minyak solar yang mampu bertahan hidup dari hasil preservasi menggunakan kombinasi metode liofilisasi dan metode gliserol berasal dari genus *Neisseria*,

*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, dan *Halomonas*.

Adapun saran yang dapat diajukan sebagai bahan pertimbangan diantaranya bahwa hasil penelitian ini dapat dikembangkan oleh instansi terkait sehingga penggunaan konsorsium bakteri pendegradasi minyak solar dapat dijadikan sebagai salah satu agen biodegradasi tumpahan minyak bumi di lingkungan perairan. Metode preservasi bakteri dapat diganti dengan metode lainnya. Dengan demikian dapat diperoleh perbandingan hasil kadar Asam *n*-Oktanoat yang dihasilkan oleh bakteri hasil preservasi dalam mendegradasi hidrokarbon minyak bumi. Selain itu, bagi pihak yang berminat meneliti, perlu dilakukan penelitian lanjut terhadap volume konsorsium bakteri yang lebih tinggi untuk memperoleh kadar Asam *n*-Oktanoat dan hasil persentase degradasi minyak solar yang optimum. Terakhir, perlu dilakukan penelitian analisis kimia terkait senyawa organik lain yang terbentuk selama proses degradasi.

#### 5. Daftar Pustaka

- Aditiawati, P., Megga R. P., dan Dea. I. A. 2001. *Isolasi Bertahap Bakteri Pendegradasi Minyak Bumi dari Sumur Bangko*. Prosiding Simposium Nasional IATMI 2001.
- Atlas, R. M. dan Bartha R.. 1981. *Microbiology Ecology, Fundamentals and Applications*. Addison Wesley Publishing Company, Inc.
- Bawa, W.. 2002. *Dasar-dasar Metodologi Penelitian*. Singaraja: Program Studi Pendidikan Biologi STKIP: Singaraja.
- Chater dan Somerville. 1978. *The Oil Industry and Microbial Ecosystems*.
- Churcill, S., L. P. Griffin, dan P. F. Jones. 1995. Biodegradation rate Enhancement of Hydrocarbon by an Oleophilic and Rhamnolipid Biosurfactan. *Journal of*



- Environment Quality, Vol. 24 (hlm 19-28)
- Fritsche, W. dan Hofrichter, M. 2000. Aerobic Degradation by Microorganisms. Dalam H-J. Rehm and G. Reed (eds). 2000. Biotechnology Environmental Process II, Vol. 11b
- Gautam, K. K. dan V. K. Tyagi. 2006. *Microbial Surfactants: A Review*. Journal of Oleo Science, Vol. 55, No. 4 (hlm. 155-166)
- Jennings, E. M. dan R. S. Tanner, 2000. *Biosurfactant-Producing Bacteria Found In Contaminated And Uncontaminated Soils*. University of Oklahoma Dept. of Botany and Microbiology.
- Keenan, C. W. 2001. *Ilmu Kimia untuk Universitas Jilid 1*. Jakarta: Erlangga.
- Komarawidjaja, W., 2009. Karakteristik dan Pertumbuhan Konsorsium Mikroba Lokal dalam Media Mengandung Minyak Bumi. Jurnal Teknik Lingkungan PTL-BPPT, Vol. 10, No. 1, (hlm.114-119)
- Komarawidjaja, W. dan Esi L.. 2009. Status Konsorsium Mikroba Lokal Pendegradasi Minyak. Jurnal Teknik Lingkungan, Vol. 10, No.3, (hlm.347-354).
- Machmud, M.. 2001. Teknik Penyimpanan dan Pemeliharaan Mikroba. Buletin Agrobio, Vol. 4, No. 1 (hlm. 24-32). Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan, Bogor
- Malatova, K. 2005. *Isolation and Characterization of Hydrocarbon Degrading Bacteria from Enviromental Habitats in Western New York State*. Department of Chemistry Rochester Institute of Technology. New York
- Nababan, B.. 2008. *Isolasi dan Uji Potensi Bakteri Pendegradasi Minyak Solar dari Laut Belawan*. Tesis tidak diterbitkan. Program Studi Pendidikan Biologi, Universitas Sumatera Utara.
- Nugroho A. 2006a. Biodegradasi Sludge Minyak Bumi dalam Skala Mikrokosmos: Simulasi Sederhana sebagai Kajian Awal Bioremediasi *Land Treatment*. Makara, Teknologi, Vol. 10, No. 2 (hlm. 82-89).
- \_\_\_\_\_. 2006b. Produksi Biosurfaktan oleh Bakteri Pengguna Hidrokarbon dengan Penambahan Variasi Sumber Karbon. Biodiversitas, Vol. 7, No. 4, (hlm. 312-316).
- \_\_\_\_\_. 2007. Dinamika Populasi Bakteri Hidrokarbonoklastik: Studi Kasus Biodegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi Skala Laboratorium". Jurnal Ilmu Dasar, Vol. 8, No. 1 (hlm 13-23).
- Ristiati, N. P.. 2013. *Uji Kemampuan Isolat Bakteri Pendegradasi Minyak Solar terhadap Limbah Oli dari Perairan Pelabuhan Celukan Bawang*. Prosiding Seminar Nasional FMIPA Undiksha III.
- Silva, R. M. P., A. A. Rodriguez., J. M. Gomez Montes de Oca dan D. C. Moreno.2006. Biodegradation of Crude Oil by Pseudomonas aeruginosa AT18 Strain. *Tecnologiaquimica*, Vol. 26, No. 1 (hlm. 70-77).
- Silvia, S dan Jasmi J. 2010. Biodegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi Menggunakan Isolat Bakteri dari Limbah Minyak Bumi PT Cevron Pacific Indonesia. Universitas Andalas
- Syafrizal, Devitra S. R., and Yanni K. 2009. Surfactant Utilization in Oil Sludge Biodegradation Using Slurry Bioreactor, Lemigas

- Scientific Contribution, Vol. 32, No. 3, (hlm. 197-201).
- Thontowi, A. 2008. *Potensi Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon Alkana sebagai Agen Bioremediasi Pencemaran Minyak di Laut Indonesia*. Tesis (tidak diterbitkan). Institut Pertanian Bogor.
- Yani, M. dan Yusuf A. 2011. Proses Biodegradasi Minyak Diesel oleh Campuran Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon. *Jurnal Teknik Industri. Pertambangan*, Vol. 19, No. 1 (hlm. 40-44). Bogor: Departemen Teknologi Institut Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Yuanita E. R., Y. P. Burhan, dan Wahyudi. 2007. Biomarka Hidrokarbon Alifatik Sedimen Laut Arafura Core MD 05-2969. *Jurnal Aktakimindo*, Vol. 2, No. 2 (hlm. 99-102).
- Zawawi, R. M. 2005. *Production of Biosurfactant by Locally Isolated Bacteria from Petrochemical Waste*. Tesis (tidak diterbitkan). Faculty of Science Universiti Teknologi Malaysia.
- Zhu, X., A. D. Venosa., M. T. Suidan dan K. Lee. 2001. *Guidelines for Bioremediation of Marine Shorelines and Freshwater Wetlands*. Cincinnati, OH 45268