

UJI KEMAMPUAN ISOLAT BAKTERI PENDEGRADASI MINYAK SOLAR TERHADAP LIMBAH OLI DARI PERAIRAN PELABUHAN CELUKAN BAWANG

Ni Putu Ristiati

, Jurusan Pendidikan Biologi, FMIPA Undiksha Singaraja

Jl. Udayana Singaraja

Email: puturistiati@gmail.com

Abstrak

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui: (1) konsentrasi penambahan oli yang menghasilkan asam organik optimum dalam biodegradasi oli oleh bakteri pendegradasi minyak solar dan (2) isolat yang mampu mendegradasi oli. Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen, menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 8 kali pengulangan. Populasi pada penelitian ini adalah kultur bakteri pendegradasi minyak solar yang diambil dari air laut di kawasan Pelabuhan Celukan Bawang pada media *Bushnell-Haas Mineral Salt*, sedangkan sampel penelitian adalah cuplikan sebanyak 1 ml kultur bakteri pendegradasi solar dari medium pembenihan. Teknik analisis data menggunakan Uji ANOVA Satu Arah dengan taraf signifikansi 5%. Berdasarkan hasil analisis data diperoleh nilai $F_{hitung} (0,104) < F_{tabel} (2,9)$, yang berarti tidak ada pengaruh penambahan konsentrasi oli terhadap kemampuan degradasi bakteri pendegradasi minyak solar. Hasil pengamatan data penunjang ditemukan enam isolat bakteri dari empat genus, yaitu *Bacillus* (isolat A dan F), *Pseudomonas* (isolat B dan E), *Acinetobacter* (isolat C), dan *Halomonas* (isolat D).

Kata kunci: isolat bakteri, bakteri pendegradasi solar, degradasi oli.

1. Pendahuluan

1.1 Latar Belakang

Perairan Indonesia tidak sepenuhnya dalam kondisi baik. Dari total luas wilayah perairan Indonesia yang berkisar 5,7 juta kilometer persegi, hanya 1,8 juta kilometer persegi atau 30 persen yang kondisinya masih baik. Sisanya, seluas 3,9 kilometer persegi, sekitar 70 persen, rusak ringan hingga rusak berat. Kerusakan antara lain disebabkan penggunaan bom ikan oleh nelayan saat menangkap ikan, pencemaran, serta gejala lain. Departemen Kelautan dan Perikanan (DKP) mengungkapkan kerusakan tersebar di seluruh perairan Indonesia. Upaya rehabilitasi tidak akan berhasil jika tidak didukung penyadaran dan pemberdayaan masyarakat (Numberi, 2009).

Pencemaran lingkungan oleh minyak bumi dapat terjadi karena kecerobohan manusia, baik sengaja maupun tidak. Pencemaran minyak bumi yang terjadi di darat maupun di laut merupakan ancaman serius bagi kelangsungan makhluk hidup disekitarnya. Minyak bumi yang mencemari tanah dapat mencapai lokasi air tanah, danau, atau sumber air yang menyediakan air bagi kebutuhan domestik maupun industri. Pencemaran minyak bumi, meskipun dengan konsentrasi hidrokarbon yang sangat rendah sangat mempengaruhi bau dan rasa air tanah (Nugroho, 2006)

Tumpahan minyak dapat menimbulkan masalah yang serius bagi komunitas biotik dan habitat perairan. Kontaminasi minyak sangat berbahaya bagi ekosistem laut karena dapat membunuh organisme secara langsung. Selain itu, dapat menyebabkan berkurangnya habitat yang layak huni bagi populasi hewan dan tumbuhan (Kennish, 2001). Minyak yang tumpah ke laut akan menyebar di permukaan air, serta terjadi modifikasi dan komposisi minyak akan berubah. Proses ini disebut perusakan oleh cuaca dan sebagian besar terkait dengan penguapan fraksi dengan berat molekul rendah, ketidaklarutan dalam air, percampuran droplet minyak dengan air laut, oksidasi fotokimia, dan biodegradasi (Harayama, Kishira, Kasai, dan Shutsubo, 1999).

Bioremediasi merupakan proses yang dilakukan oleh mikroorganisme melalui metabolisme hidrokarbon untuk memperoleh energi yang nantinya akan digunakan untuk sintesis, bergerak, bernafas dan bereproduksi (Cohen, 2002). Melalui proses ini akan dihasilkan sel-sel baru, karbondioksida, dan air. Mikroba yang memetabolisme minyak banyak ditemukan dibelahan bumi, baik di darat maupun di perairan. Mikroorganisme semacam ini dapat ditemukan di perairan laut atau di tempat manapun yang terdapat sumber-sumber hidrokarbon. Kemampuan degradasi suatu jenis mikroba terbatas pada kisaran

senyawa hidrokarbon tertentu. Susunan senyawa yang kompleks, seperti minyak bumi, menyebabkan suatu spesies tunggal mikroorganisme tidak dapat mendegradasi keseluruhan komponen penyusun minyak bumi. Hal ini dikarenakan setiap spesies bakteri membutuhkan substrat yang spesifik. Beberapa bakteri yang berinteraksi saling menguntungkan dalam bentuk konsorsium sangat berperan selama berlangsungnya proses degradasi minyak bumi (Aditiawati, Pikoli, dan Indriani, 2001; Nugroho, 2006).

Bakteri dalam aktivitas hidupnya memerlukan molekul karbon sebagai salah satu sumber nutrisi dan energi untuk melakukan metabolisme serta perkembangbiakannya. Senyawa nonhidrokarbon merupakan nutrisi pelengkap yang dibutuhkan untuk pertumbuhannya. Atlas dan Bartha (Nugroho, 2006) menyebutkan bahwa bakteri yang memiliki kemampuan mendegradasi senyawa hidrokarbon untuk keperluan metabolisme dan perkembangbiakannya disebut kelompok bakteri hidrokarbonoklastik.

Pelabuhan Celukan Bawang berlokasi di Desa Gerogkak, 50 kilometer sebelah barat Kota Singaraja. Pelabuhan ini merupakan salah satu pusat bongkar muat barang di Provinsi Bali. Lalu lintas kapal yang berlabuh dan berangkat dari pelabuhan ini cukup banyak, sehingga buangan limbah bahan bakar minyak berpotensi menyebabkan pencemaran. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa di Pelabuhan Celukan Bawang terdapat mikroba yang mampu mendegradasi minyak solar. Minyak pelumas (oli) kapal terkadang turut berperan menyebabkan pencemaran perairan. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengujian apakah bakteri pendegradasi solar yang diisolasi dari perairan Pelabuhan Celukan Bawang mampu atau tidak dalam mendegradasi oli. Rumusan Masalah : 1). Berapakah konsentrasi penambahan oli yang menghasilkan asam organik paling banyak dalam biodegradasi oli oleh bakteri pendegradasi minyak solar? 2). Bagaimanakah karakteristik isolat bakteri pendegradasi minyak solar yang mampu mendegradasi limbah oli?

2. Metode Penelitian

Penelitian ini tergolong penelitian eksperimen yang bertujuan untuk menguji hipotesis tentang adanya hubungan sebab akibat antara dua variabel atau lebih (Bawa, 1997). Rancangan penelitian yang

digunakan adalah *The Posttest-Only Control Group Design*. Penelitian ini dilakukan dengan 8 kali pengulangan. Jumlah pengulangan ini didapatkan dari rumus pengulangan RAL (Rancangan Acak Lengkap) yaitu, $t(r-1) \geq 20$, (Gaspersz, 1991). Perlakuan yang diberikan adalah penambahan oli dengan kadar yang berbeda-beda, yang terdiri dari tiga level/ taraf yaitu: 3 ml, 6 ml, dan 9 ml.

Populasi penelitian ini adalah kultur bakteri pendegradasi minyak solar yang diambil dari perairan Pelabuhan Celukan Bawang pada media *Bushnell-Haas Mineral Salt* ditambah zat anti jamur (natrium tiosulfat). Sampel yang diambil merupakan cuplikan sebanyak 1 ml kultur bakteri untuk masing-masing kelompok pada setiap pengulangan.

Dalam penelitian ini digunakan tiga variabel, yaitu: 1) Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi oli yang digunakan untuk uji kemampuan degradasi bakteri. Variasi konsentrasi oli yang digunakan yaitu 3 ml, 6 ml, dan 9 ml dalam masing-masing 100 ml *Bushnell-Haas Mineral Salt* yang telah berisi 1 ml kultur bakteri. 2) Variabel terikat yang diukur pada uji kemampuan degradasi adalah kemampuan degradasi yang diukur berupa volume NaOH yang digunakan untuk mentitrasi 25 ml media uji, yang merupakan cerminan kadar asam organik hasil biodegradasi. 3) Variabel yang dikendalikan atau dikontrol selama penelitian berlangsung adalah suhu, oksigen, nutrisi, dan pH.

Data yang telah terkumpul pada akhir penelitian selanjutnya ditabulasi dalam tabel kerja. Data kemudian diuji dengan menggunakan uji normalitas dan uji homogenitas. Apabila dari uji tersebut diperoleh data yang normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan analisis parametrik dengan menggunakan uji ANOVA Satu Arah pada taraf signifikansi 5%. Sebelum dianalisis dengan menggunakan uji ANOVA Satu Arah, data harus dalam keadaan berdistribusi normal dan homogen.

3. Hasil Dan Pembahasan

Hasil Penelitian

1). Volume NaOH yang Digunakan untuk Mentitrasi 25 ml Larutan Uji

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diketahui bahwa isolat bakteri pendegradasi minyak solar dapat mendegradasi oli. Volume NaOH yang digunakan untuk mentitrasi 25 ml media uji. Terlihat bahwa jumlah volume NaOH yang

digunakan untuk mentitrasi 25 ml media uji paling banyak pada perlakuan penambahan 6 ml oli (102,41 ml), kemudian sampai paling sedikit berturut-turut pada perlakuan 3 ml oli (101,93 ml) dan 9 ml oli (100,48 ml).

2). Karakteristik Bakteri Pendegradasi Solar yang Berperan dalam Biodegradasi Oli

Isolat bakteri pendegradasi minyak solar ditumbuhkan pada media *Bushnell-Haas Mineral Salt Agar*. Selanjutnya diamati morfologi serta diuji secara biokimia untuk mengetahui karakteristik bakteri pendegradasi oli tersebut. Setelah dilaksanakan serangkaian pengamatan dan uji, maka diperoleh genus bakteri hidrokarbonoklastik pendegradasi minyak solar yang sekaligus dapat mendegradasi oli.

3). Hasil Pengamatan Biodegradasi Oli

Pengamatan dilakukan dengan mengamati perubahan yang terjadi, seperti perubahan warna media, tingkat kekeruhan minyak, pH, dan misel-misel yang terbentuk pada minyak. Berdasarkan hasil pengamatan terlihat bahwa pada hari pertama (1x 24 jam) keadaan kontrol masih sama dengan keadaan saat diinokulasikan bakteri, yakni media masih tampak bening tidak berwarna, lapisan minyak terlihat jelas di permukaan dan tingkat keasaman berada pada kisaran 7. Sementara pada kelompok perlakuan telah muncul misel-misel berukuran besar pada lapisan minyak paling bawah. Perubahan pada kelompok kontrol baru terlihat pada pengamatan 2x24 jam. Perubahan ditandai dengan munculnya misel pada lapisan minyak paling bawah, sementara warna media dan kekeruhan belum mengalami perubahan. Perubahan warna media dari bening menjadi bening kekuningan terjadi pada pengamatan 4x24 jam. Pada kelompok kontrol. Pada pengamatan 8x24 jam, warna media kelompok kontrol berubah menjadi kekuningan, lalu berubah menjadi keruh kekuningan mulai dari pengamatan 11x24 jam. Sementara pada kelompok perlakuan tidak terjadi perubahan warna media hingga hari terakhir pengamatan. pH medium uji mengalami peningkatan pada pengamatan 2x24 jam pada kelompok uji dan pada pengamatan 3x24 jam pada kelompok kontrol. Sementara itu, pH medium mengalami penurunan mulai pada pengamatan 9x24 jam pada kelompok perlakuan dan 12x24 jam pada kelompok kontrol. Pada hari ke-21 dilaksanakan proses

titrasi media uji dengan menggunakan larutan NaOH 0,1 M yang telah distandardisasi. Volume NaOH yang digunakan pada saat titrasi mencerminkan kadar asam organik yang dihasilkan selama proses degradasi hidrokarbon penyusun oli.

Berdasarkan hasil uji didapat bahwa $F_{hitung} (0,104) < F_{tabel} (2,9)$, sehingga H_0 diterima. Hal ini berarti tidak ada pengaruh penambahan konsentrasi oli terhadap kemampuan degradasi bakteri pendegradasi minyak solar.

Pembahasan

1). Volume NaOH yang Digunakan untuk Mentitrasi 25 ml Media Uji

Berdasarkan data utama yang tercatat pada Tabel 4.1 dapat diketahui bahwa isolat bakteri pendegradasi minyak solar yang diisolasi dari perairan Pelabuhan Celukan Bawang mampu mendegradasi oli. Hal ini dapat dilihat dari adanya asam organik hasil degradasi dari senyawa hidrokarbon penyusun oli. Hasil uji hipotesis diperoleh hasil $F_{hitung} (0,104) < F_{tabel} (2,9)$, sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak ada pengaruh penambahan konsentrasi oli terhadap kemampuan degradasi bakteri pendegradasi minyak solar.

Tidak adanya perbedaan volume NaOH yang digunakan pada proses titrasi antara kelompok perlakuan dikarenakan jika sejumlah sama bakteri ditumbuhkan pada sejumlah substrat, berupa senyawa hidrokarbon, yang berbeda konsentrasinya dengan kecepatan degradasi hidrokarbon oleh bakteri adalah sama, maka produk degradasi yang dihasilkan jumlahnya relatif sama. Penggunaan *shaker* dapat meningkatkan tingkat homogenitas bakteri pada media pembenihan dan media uji. Pada penelitian ini *shaker* tidak digunakan sehingga tingkat homogenitas bakteri pada media pembenihan dan media uji lebih rendah dibandingkan jika menggunakan *shaker*.

2). Karakteristik Bakteri Pendegradasi Solar yang Berperan dalam Biodegradasi Oli.

Berdasarkan hasil pengamatan dan serangkaian uji yang tercatat pada Tabel 4.2, 4.3, dan 4.4, dapat diketahui bahwa dari karakteristik yang dimiliki isolat tersebut dapat diidentifikasi menjadi empat genus bakteri, yaitu *Bacillus* (isolat A dan F), *Pseudomonas* (isolat B dan E), *Acinetobacter* (isolat C), dan *Halomonas* (isolat D). Genus *Bacillus* (isolat A dan F) memiliki bentuk batang, bersifat gram positif dan bersifat motil serta membentuk endospora.

3). Hasil Pengamatan Biodegradasi Oli

a). Warna media :Bakteri yang berasal dari laut dapat memproduksi pigmen dengan berbagai variasi warna. Pigmen berperan dalam perlindungan bakteri dari sinar matahari dan ultraviolet yang dapat membunuh bakteri. Dari hasil pengamatan, kelompok media uji yang diberi perlakuan tidak mengalami perubahan warna (tetap bening) sedangkan kelompok kontrol mengalami perubahan warna dari bening menjadi kekuningan. Hal ini disebabkan karena bakteri yang tumbuh pada medium uji yang diberi perlakuan tidak menghasilkan pigmen yang larut dalam air, sedangkan bakteri yang tumbuh pada medium kontrol mampu menghasilkan pigmen yang larut dalam air. Jenis pigmen yang dihasilkan bakteri pada medium kontrol berupa *pyoverdin* yang dihasilkan oleh *Pseudomonas* (Winsonville, 2000).

b). Kekeruhan :Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh data bahwa media semakin lama semakin keruh. Hal ini disebabkan karena bakteri dalam media tersebut semakin banyak. Kelompok kontrol terlihat lebih keruh daripada kelompok perlakuan diakibatkan oleh efek kumulatif dari pigmen warna yang terlarut dalam media dan jumlah sel bakteri yang ada pada media.

c). Perubahan Ph :Pada hasil pengamatan tampak jelas bahwa pada proses awal terjadinya reaksi terjadi peningkatan pH, yaitu dari pH 7 menjadi 8. Setelah itu, pH akan kembali turun sampai kisaran 6. Hal ini disebabkan pada tahap awal biodegradasi terjadi pembentukan biosurfaktan, peningkatan biosurfaktan menyebabkan terjadinya peningkatan pH. Semakin banyak biosurfaktan yang terbentuk maka pH akan semakin meningkat. Setelah minyak teremulsi hampir seluruhnya, pH akan terus menurun disebabkan oleh aktivitas bakteri yang membentuk metabolit-metabolit asam, terutama metabolit hasil degradasi hidrokarbon.

d). Perubahan minyak : Oli yang semula menyatu dan membentuk lapisan tersendiri dipermukaan larutan media lama kelamaan terpecah menjadi butiran-butiran yang lebih kecil. Terbentuknya butiran-butiran kecil itu disebabkan oleh produksi biosurfaktan oleh bakteri. Semakin banyak butiran-butiran minyak yang terbentuk menandakan semakin banyak biosurfaktan yang menyelimuti minyak tersebut. Pada pengamatan hari ke-16 s.d. hari ke-21 pada perlakuan penambahan 6 ml dn 9 ml oli,

saat oli dalam keadaan tenang, oli pada lapisan paling atas tidak terselimuti oleh biosurfaktan sementara butiran-butiran minyak dibawah lapisan tersebut ukurannya sangat kecil. Bakteri lebih aktif pada lapisan oli dibagian bawah (yang dicirikan dengan terkonsentrasinya biosurfaktan pada lapisan minyak dibagian bawah). Hal ini dikarenakan bakteri akan lebih mudah memperoleh nutrisi (selain karbon) jika terkonsentrasi di dekat permukaan media.

4. Penutup

Simpulan : 1) Berdasarkan hasil uji hipotesis dengan menggunakan uji ANOVA Satu Arah didapatkan nilai $F_{hitung} (0,104) < F_{tabel} (2,9)$, sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak ada pengaruh penambahan konsentrasi oli terhadap kemampuan degradasi bakteri pendegradasi minyak solar, 2) Bakteri pendegradasi minyak solar sekaligus mampu mendegradasi oli yang diisolasi dari perairan Pelabuhan Celukan Bawang antara lain dari genus: *Bacillus* (isolat A dan F), *Pseudomonas* (isolat B dan E), *Acinetobacter* (isolat C), dan *Halomonas* (isolat D).

Saran :1)Penelitian ini merupakan penelitian awal, sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai kemampuan bakteri pendegradasi solar sekaligus mampu mendegradasi oli yang diisolasi dari perairan Pelabuhan Celukan Bawang dengan berbagai perlakuan,2) Tidak adanya perubahan warna media cair pada kelompok perlakuan dengan penambahan oli belum terungkap penyebabnya, sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut,3) Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai perbandingan asam-asam organik hasil degradasi hidrokarbon penyusun oli karena dalam penelitian ini hal tersebut belum terungkap.

5. Daftar Pustaka

- Aditiawati, Pingkan. Pikoli, Megga R., dan Indriani, Dea. 2001. "Isolasi Bertahap Bakteri Pendegradasi Minyak Bumi dari Sumur Bangko". Tersedia pada <http://elib.iatmi.or.id/uploads/2001-59.pdf> (diakses tanggal 2 April 2010).
- Aqi. 2008. "Biosurfaktan dalam Operasi Teknik Lingkungan". Tersedia pada <http://www.forumsains.com/index.php?page=biosurfaktan-dalam-operasi-teknik-lingkungan> (diakses tanggal 23 Juli 2010).
- Assinder, Susan J. dan William, Peter A. 1988. "Comparison of the *meta* Pathway

- Operons on NAH Plasmid pWW60-22 and TOL Plasmid pWW53-4 and Its Evolutionary Significance". <http://mic.sgmjournals.org/cgi/reprint/134/10/2769.pdf> (diakses tanggal 25 Juli 2010).
- Atlas, Ronald M. 1981. "Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbons: an Environmental Perspective". Tersedia pada <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC281502> (diakses tanggal 13 April 2010).
- Benson, Harold J. 2002. *Microbiology Applications (Eighth Edition)*. New York : McGraw Hill.
- Budiyanto. 2002. *Mikrobiologi Terapan*. Malang : Penerbit UMM.
- Chikere, C. B. Okpokwasili, G.C., dan Chikere, B.O. 2009. "Bacterial Diversity in a Tropical Crude Oil-polluted soil Undergoing Bioremediation". Tersedia pada <http://www.indiaenvironmentportal.org.in/files/Bacterial%20diversity%20in%20a%20tropical%20crude%20oilpolluted%20soil.pdf> (diakses tanggal 2 April 2010).
- Cohen, Yehuda. 2002. "Bioremediation of Oil by Marine Microbial Mats". Tersedia pada <http://www.im.microbios.org/articles0203/2002/december/05%20Cohen.pdf> (diakses tanggal 2 April 2010).
- Desai, Anjana. dan Vyas, Pranav. 2006. "Applied Microbiology: Petroleum and Hydrocarbon Microbiology". Tersedia pada <http://nsdl.niscair.res.in/bitstream/123456789/645/1/PetroleumMicrobiology.pdf> (diakses tanggal 30 Juli 2010).
- Dinamarca, M. Alejandro., Olmedo, Aranda Isabel., Puyet, Antonio., dan Rojor, Fernando. 2003. "Expression of the *Pseudomonas putida* OCT Plasmid Alkane Degradation Pathway Is Modulated by Two Different Global Control Signals: Evidence from Continuous Cultures". Tersedia pada : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC166476/pdf/0341.pdf> (diakses tanggal 17 Juli 2010).
- Ferrero, Marcela., Brossa, Enrique Llobet., Lalucat, Jorge., Valdés, Elena García., Mora, Ramón Rosselló., dan Bosch, Rafael. 2002. "Coexistence of Two Distinct Copies of Naphthalene Degradation Genes in *Pseudomonas* Strains Isolated from the Western Mediterranean Region". Tersedia pada <http://aem.asm.org/cgi/content/full/68/2/957> (diakses tanggal 25 Juli 2010).
- Fritsche, Wolfgang dan Hofrichter, Martin. (tanpa tahun). "Aerobic Degradation by Microorganisms". Tersedia pada http://www.wiley-vch.de/books/biotech/pdf/v11b_aero.pdf (diakses tanggal 17 Juli 2010).
- Gaspersz, V.1991. *Teknik Analisis dalam Penelitian Percobaan I*. Bandung : Tarsito.
- Giwangkara, E. G. 2007. "Apa Komposisi dari Minyak Bumi?". Tersedia pada http://www.chemistry.org/tanya_pakar/apa_komposisi_dari_minyak_bumi/ (diakses 13 April 2010).
- Hadi, Sapto N. 2003. "Degradasi Minyak Bumi via "Tangan Mikroorganisme". Tersedia pada : <http://www.chem-is-try.org> (diakses tanggal 30 April 2010)