

Pertumbuhan Konsorsium Isolat Bakteri Asal Benakat pada Media Minyak Bumi Bersalinitas Tinggi : Studi Kasus Biodegradasi Minyak Bumi Skala Laboratorium
(Growth of Bacteria Isolat Consortium From Benakat on High Salinity Crude Oil Media)

Astri Nugroho, Edison Effendi dan Fiona Annisa
 Staf Pengajar Program Studi Teknik Lingkungan
 Fakultas Arsitektur Lansekap dan Teknologi Lingkungan
 Universitas Trisakti

ABSTRACT

The production and consumption of oil and petroleum product are increasing worldwide and threat of oil pollution is increasing accordingly. About 10 million tons of oil and petroleum products are used worldwide each day, it will occur 5% of all oil pollution entering the sea. For that reason, needs a treatment to handle and remediate aquatic ecosystem like former. Bioremediation is a process to detoxify and degrade crude oil. Expected from this process, land and aquatic environment where were polluted by petroleum can be natural. Treatments are divided into three stages, which are (1) isolation of dominant microorganism that degraded petroleum hydrocarbon in 15% salinity and TPH 10%, (2) Identification of bacteria with biochemistry test and Analytical Profile Index 20 NE test (3) Biodegradation ability test in 15%, 10% salinity and 30‰ (seawater salinity) and TPH (Total Petroleum Hidrocarbon) 1%, 2.5 %, 5 %, and 10 %. The microorganisms that were identified from the isolation crude oil from Benakat are Pseudomonas aeruginosa, Aeromonas hydrophila and Agrobacterium radiobacter. Total sel microorganisms/ml in exponential phase are P. aeruginosa: $2.42E^{+14}$ /ml, A. hydrophila: $2.99E^{+14}$ /ml, A. radiobacter: $2.42E^{+14}$ /ml, and mixed culture microorganism: $4.65E^{+14}$ /ml. The average percentage sequence degradation from the optimum growth are mixed culture = 92%, P. Aeruginosa = 90%, A. hydrophila = 88%, and A. radiobacter = 79%. The percentage sequence degradation of mixed culture in 15% salinity and 1%, 2.5%, 5%, 10% TPH concentration are 90%, 84%, 97%, 94%. Otherwise, 30‰ salinity and 1%, 5%, 10% TPH concentration, the percentage of biodegradation are 98%, 96%, 84%.

Keywords : mixed culture microorganism, biodegradation, salinity, crude oil

PENDAHULUAN

Sumber daya alam seperti minyak bumi, batubara, gas, sangat diperlukan oleh industri. Hal tersebut bisa terlihat pada permintaan minyak bumi oleh negara industri maju pada negara-negara penghasil minyak bumi, seperti di Timur Tengah. Minyak bumi dapat diperoleh dari darat dan laut dengan cara pengeboran (*drilling*). Namun dalam melaksanakan eksplorasi ini, minyak bumi sering tumpah ke lingkungan yang mengakibatkan tercemarnya daratan dan lautan, seperti salah satu kasus yang terjadi di Kepulauan Seribu pada Desember 2003. Pencemaran lingkungan oleh minyak bumi disebabkan karena tumpahnya minyak bumi pada proses pengolahan, produksi, distribusi maupun penggunaannya sehingga komponen-komponen minyak bumi terlepas ke dalam lingkungan, misalnya kebocoran tangker minyak bumi, jalur pipa transmisi, kebocoran karena peralatan yang tidak terawat dengan baik, proses produksi

yang tidak baik, pembuangan sisa minyak bumi.

Pada kenyataannya, produksi dan konsumsi produk minyak semakin meningkat di seluruh dunia dan pencemaran minyak secara langsung akan meningkat juga. Sekitar 10 juta ton minyak per hari yang digunakan di seluruh dunia, dari jumlah tersebut hanya sebagian kecil yang tumpah ke perairan. Pencemaran minyak ke laut, sebagian besar berasal dari darat sedangkan dari kapal tanker hanya < 5% dari total pencemaran minyak di laut. Di Kanada, sekitar 4000L minyak tumpah per hari dari 12 jenis tumpahan minyak, sedangkan di USA terdapat 25 jenis minyak tumpah di laut dan 75 jenis di darat. Sekitar 30-50% tumpahan minyak secara langsung dan tidak langsung diakibatkan oleh kesalahan manusia dan 20-40% karena kesalahan ini karena kerusakan alat atau tidak sesuai fungsinya (*malfunction*) (Fingas, 2001).

Sapto Nugroho Hadi (2005) menyatakan bahan utama yang terkandung di dalam minyak

bumi adalah hidrokarbon alifatik dan aromatik. Minyak bumi mengandung senyawa nitrogen antara 0-0,5%, belerang 0-6%, dan oksigen 0-3,5%. Terdapat lebih dari empat seri hidrokarbon yang terkandung di dalam minyak bumi, yaitu seri n-paraffin, seri iso-paraffin, seri neptena.

Dampak ekologis yang ditimbulkan dari pencemaran minyak bumi di laut, yaitu: Pencemaran laut yang berasal dari tumpahan minyak akan merusak ekosistem laut antara lain *plankton (fitoplankton-zooplankton)* dan *nekton*. Pencemaran minyak di laut sebagai akibat dari tumpahan minyak dapat mempengaruhi tingkat intensitas fotosintesis.

Dalam hal ini bioremediasi merupakan proses detoksifikasi dan degradasi minyak dari senyawa yang kompleks menjadi senyawa sederhana seperti CO₂ dan H₂O. Melalui proses ini diharapkan lahan atau lingkungan akuatik yang tercemar minyak bumi akan menjadi normal kembali (Udiharto, 1996).

Bioremediasi semakin berkembang dikalangan para peneliti, terbukti oleh banyaknya laporan penelitian yang beredar di situs-situs yang menunjukkan keberhasilan menemukan mikroorganisme perombak polutan dengan metode bioremediasi untuk mendegradasi limbah rekalsitran dengan memanfaatkan mikroorganisme. Atlas dan Bartha (1985) mengemukakan ada 22 genus bakteri yang dapat menguraikan hidrokarbon minyak mentah dan bakteri tersebut diisolasi dari lingkungan perairan.

Hasil penelitian Le Petit, *et al* (1965) dalam Chator dan Somerville (1978) yang berhasil mengisolasi 191 spesies dari Coastal Waters, diantaranya *Pseudomonas*, *Achromobacter (Alcaligenes)*, *Acinetobacter* dan *Arthrobacter*, menunjukkan genus mikroorganisme yang hampir sama dengan yang diisolasi oleh Feliatra (1998), yaitu terdapat 9 isolat bakteri pendegradasi minyak bumi pada perairan Selat Malaka antara lain 5 isolat *Acinetobacter sp*, 2 isolat *Arthrobacter sp*, 1 isolat *Micrococcus sp*, dan 1 isolat *Bacillus sp*.

Telah diketahui bahwa bakteri sulit untuk hidup pada kondisi yang hipertonis, karena dinding sel bakteri akan mengerut akibat konsentrasi mediumnya lebih pekat dibandingkan dengan konsentrasi cairan di dalam sel. Oleh karena itu tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui karakteristik dan jenis mikroorganisme yang mampu

mendegradasi minyak bumi pada kondisi salinitas tinggi serta melakukan uji degradasi dengan variasi TPH. Hipotesisnya adalah isolat konsorsium bakteri dapat mendegradasi minyak bumi pada kondisi salinitas tinggi.

METODE

Bahan

Medium dasar yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Stone Mineral Salt Solution (SMSS)* dengan *yeast* 0,1% (b/v). Sampel minyak bumi yang berasal dari Benakat ditambahkan sebagai substrat/sumber karbon.

Adaptasi dan Aklimatisasi

Minyak bumi mentah diaklimatisasi dalam larutan bersalinitas tinggi. Mikroorganisme indigenous yang diisolasi dari sampel minyak bumi ditumbuhkan dalam medium cair SMSS dengan penambahan minyak bumi. Konsentrasi minyak bumi pada perlakuan ini ditentukan dalam konsentrasi TPH = 10% dan salinitas 15%. Aklimatisasi dilakukan pada erlenmeyer yang di kocok dengan *rotary shaker* dengan kecepatan 150 rpm, temperatur kamar dan pH 6-7.

Isolasi dan Pemurnian bakteri

Isolasi dilakukan dengan menginokulasi hasil aklimatisasi setiap 7 hari selama 1,5 bulan dengan metode cawan tuang. Pemurnian dilakukan dengan cara mengambil koloni yang berbeda-beda secara morfologi, yang tumbuh pada permukaan medium NA dan memasukkannya ke dalam tabung reaksi yang berisi medium SMSS padat. Setiap isolat yang tumbuh dipermukaan diuji dengan pewarnaan Gram.

Identifikasi Bakteri

Setelah mendapatkan isolat bakteri, maka untuk mengetahui karakteristik setiap bakteri dominan dilakukan identifikasi secara morfologi, yaitu dengan pewarnaan Gram. Pengujian secara Biokimia dan Analisis API (*Analytical Profile Index*) 20NE juga telah dilakukan.

Pengukuran Variabel Mikroorganisme

Terjadinya degradasi minyak bumi dengan menghitung jumlah koloni/ml yang tumbuh di dalam medium SMSS padat.

Pengukuran Variabel Bahan Organik

Terjadinya degradasi minyak bumi dengan menghitung biomassa sel mikroorganisme (mg VSS/liter) yang teruapkan.

Pengukuran Variabel Fisik/Kimia

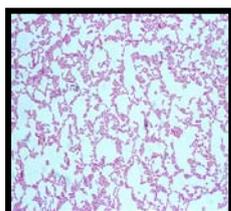
Secara fisik/kimia terjadinya degradasi diamati dengan menimbang berat minyak bumi sisa hasil degradasi secara gravimetri dan menganalisisnya dengan metode penyisihan minyak dan lemak.

HASIL DAN PEMBAHASAN

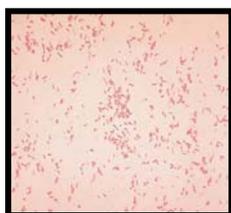
Isolat Bakteri Dominan

Hasil dari isolasi yaitu diperoleh 5 isolat bakteri, 3 isolat diantaranya merupakan isolat dominan yang selalu dijumpai hingga akhir penelitian. Pengujian Biokimia dan Analisis API 20 NE telah dilakukan untuk mengetahui jenis dan karakteristik 3 jenis bakteri tersebut, dan hasilnya antara lain: *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophila*, dan *Agrobacterium radiobacter*. Morfologi bakteri tersebut dapat dilihat pada Gambar 1.

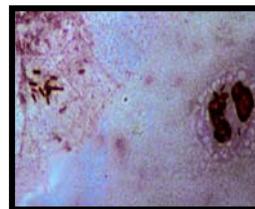
Hasil penelitian ini, 5 isolat yang ditemukan, 80% merupakan gram negatif bentuk batang. Semua isolat memiliki kemampuan tumbuh optimum pada suhu 35-37 °C. Hal ini menunjukkan bahwa semua isolat merupakan mesofilik. Ukuran koloni bervariasi antara 1-10 mm.



A) *Pseudomonas aeruginosa*



B) *Aeromonas hydrophila*



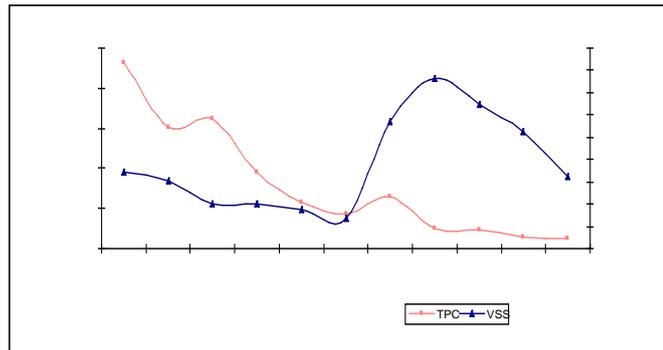
C) *Agrobacterium radiobacter*

Gambar 1. Hasil Pewarnaan Gram

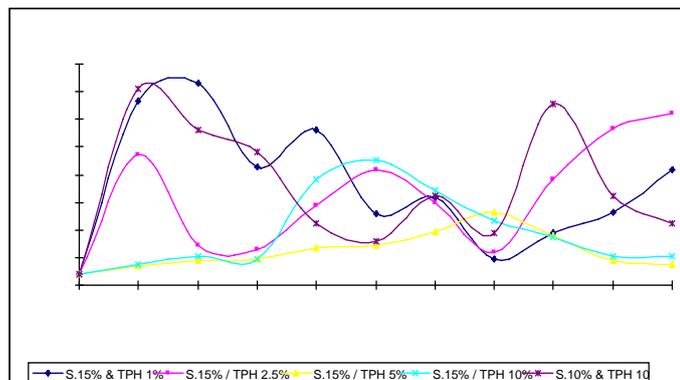
Berdasarkan hasil yang diperoleh Al Mallah (1998) dalam Stephen (2003), 44% dari isolat bakteri yang diisolasi dari perairan laut yang kadar garamnya tinggi merupakan gram negatif. Bertrand dan Mille (1989) dalam Stephen (1999) menemukan bahwa 90% dari isolat bakteri yang diisolasi dari Laut Mediterranean merupakan gram negatif. Demikian pula menurut hasil penelitian Feliatra (1998), bahwa 55,6% isolat bakteri yang diisolasi dari perairan Dumai merupakan gram negatif.

Pertumbuhan Konsorsium Bakteri Pada Kurva Tumbuh Tanpa Perlakuan

Pola pertumbuhan pada Gambar 2 memberikan informasi bahwa pada 3 jam pengamatan, fase eksponensial sudah terlihat dengan jumlah sel $4,65E^{+14}/ml$ dan biomassa sel sebesar 7620 mgVSS/l setelah 24 jam. Fase eksponensial yang terjadi antara jumlah sel dengan biomassa sel seharusnya berlangsung dalam waktu yang sama. Namun berdasarkan penelitian ini, fase eksponensial berdasarkan parameter jumlah koloni/ml berlangsung pada 3 jam pengamatan, sedangkan berdasarkan biomassa sel berlangsung setelah 24 jam. Hal ini biasa terjadi karena perbedaan prinsip dari pengukuran VSS dengan TPC. Pengukuran VSS berdasarkan semua berat bahan organik yang teruapkan (termasuk mikroorganisme) sedangkan TPC hanya berdasarkan jumlah koloni/ml mikroorganisme, sehingga pada saat pengukuran TPC kemungkinan jumlah koloni banyak yang tak terhitung.



Gambar 2. Kurva Pertumbuhan Awal Konsorsium pada pH 6,8 - 7,2 dan temperatur 28°C.



Gambar 3. Kurva pertumbuhan konsorsium dengan salinitas 15% dan 10% pada pH 6,8 – 7,2 dan temperatur 28°C.

Pertumbuhan Konsorsium Bakteri pada Berbagai Perlakuan

Pola pertumbuhan pada Gambar 3 memperlihatkan kombinasi perlakuan salinitas 15% dengan TPH 1%, 2,5%, 5%, dan 10%, sedangkan salinitas 10% dengan TPH 10%. Salinitas 15% dengan TPH 1%, TPH 2,5% dan salinitas 10% dengan TPH 10% merupakan perlakuan yang mengalami fase eksponensial terlebih dulu. Peningkatan biomassa sel sebesar 86322-138398,3 mgVSS/l (92%-94,8%) selama 12 jam. Besarnya peningkatan biomassa sel, memperlihatkan hubungan sinergisme bakteri yang terdapat dalam minyak untuk memanfaatkan substrat dengan cara beragam, sehingga jumlah populasi mikroorganisme meningkat secara signifikan dengan fase adaptasi selama 6 jam. Kelly (1978) dalam Doerffer (1992) menyatakan interaksi yang saling menguntungkan antara mikroorganisme untuk memanfaatkan substrat atau

meningkatkan metabolisme sangat sering terjadi.

Namun pada kondisi salinitas 15% dengan TPH 2,5% jam ke-48 sampai jam ke-96 terjadi fase stasioner selama 48 jam. Fase kematian terjadi pada jam ke-96 sampai jam ke-120 ditandai dengan penurunan jumlah populasi menjadi 23406 mgVSS/l. Setelah melewati 120 jam bakteri konsorsium pada salinitas 15% dengan TPH 1% dan TPH 2,5% mengalami fase eksponensial kembali sampai waktu tertentu. Hal ini dikarenakan kemampuan bakteri yang masih dapat mendegradasi minyak bumi sampai pada waktu tertentu.

Fase lag terjadi selama 24 jam pada kondisi salinitas 15% dengan TPH 5% dan TPH 10%, lalu diikuti fase eksponensial sampai jam ke-72 untuk TPH 10%. Peningkatan biomassa sel pada TPH 10% sebesar 70975mgVSS/l atau 79%, sedangkan untuk TPH 5% terjadi sampai jam ke-120 dengan biomassa sel meningkat sebesar 45080 mgVSS/l atau 85%. Fase

stasioner untuk TPH 10% terjadi pada jam ke-72 sampai jam ke-96, sedangkan untuk TPH 5% terjadi pada jam ke-120 sampai jam ke-144. Fase kematian untuk TPH 10% terjadi setelah jam ke-96 sampai jam ke-192, sedangkan untuk TPH 5% pada jam ke-144 sampai jam ke-192.

Kurva perlakuan pada Gambar 4 menunjukkan TPH 1%, 5%, dan 10% mengalami fase eksponensial setelah melewati 6 jam. Peningkatan biomassa sel berkisar 99692 mgVSS/l (93%). Pertumbuhan mikroorganisme konsorsium pada TPH 1% mengalami fase stationer selama 162 jam, kemudian diikuti fase kematian dengan biomassa sel sebesar 50499 mgVSS/l. Setelah melewati fase eksponensial, pada TPH 10% mikroorganisme konsorsium berada dalam fase kematian sampai 192 jam. Hal ini kemungkinan disebabkan interaksi yang terjadi antara mikroorganisme dalam mendegradasi minyak bumi berubah menjadi berlawanan (antagonis), sehingga interaksi antar mikroorganisme saling menghambat. Pendapat dari Kelly (1978) dalam Doerffer (1992) menyatakan bahwa antagonisme adalah interaksi dalam memperebutkan *trace* nutrisi antar mikroorganisme.

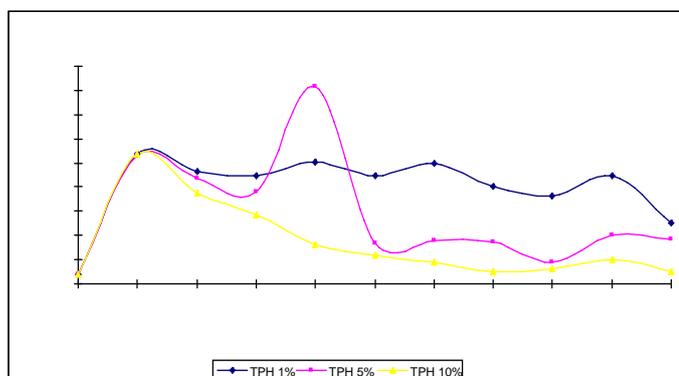
Hasil penelitian Walker dan Colwell (1974, dalam Chator dan Somerville, 1978) menyebutkan keanekaragaman dan kelimpahan mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon yang terdapat di alam memiliki hubungan yang linier dengan peningkatan kadar polusi hidrokarbon.

Pertumbuhan yang berfluktuatif tersebut merupakan ciri utama terjadinya proses

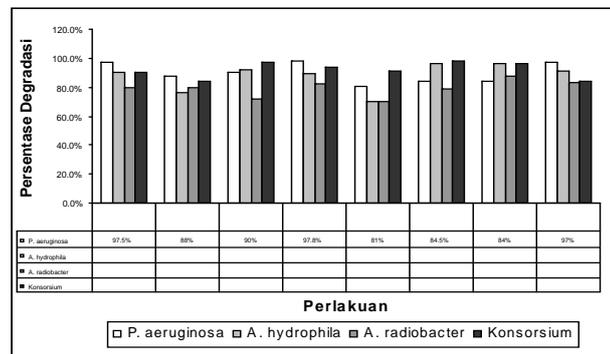
perombakan suatu senyawa kompleks oleh berbagai jenis bakteri dalam bentuk konsorsium. Secara spesifik hasil penelitian ini memberikan informasi bahwa suatu konsorsium bakteri pendegradasi minyak bumi lebih efektif dalam mendegradasi minyak bumi dibandingkan bakteri dalam bentuk kultur tunggal. Minyak bumi merupakan campuran yang kompleks dari senyawa-senyawa hidrokarbon, sedangkan tiap jenis bakteri memiliki kemampuan yang terbatas dalam mendegradasinya. Oleh karena itu setiap jenis bakteri secara bergantian akan mendominasi konsorsium sesuai dengan fraksi hidrokarbon yang mampu dimanfaatkannya.

Nilai pH medium SMSS selama masa inkubasi (0-8 hari) dari seluruh variasi penelitian mengalami perubahan dengan kisaran sebesar 6,5-7,2. Kisaran pH ini tidak jauh berbeda dengan pH optimum pertumbuhan bakteri pada umumnya. Pergeseran pH yang tidak terlalu besar karena adanya larutan penyangga berupa KH_2PO_4 dalam medium SMSS yang diperkaya. Penurunan harga pH disebabkan oleh aktivitas metabolisme bakteri dalam proses biodegradasi minyak bumi yang menghasilkan asam lemak sebagai produk akhirnya.

Peningkatan biomassa sel (mgVSS/l) terutama pada saat fase eksponensial, yaitu pada saat mikroorganisme mengalami peningkatan populasi (jumlah sel) dua kali lipat selama waktu generasi. Dengan peningkatan populasi tersebut maka jumlah substrat yang dibutuhkan juga semakin bertambah, Hal ini ditandai dengan penurunan konsentrasi minyak bumi sisa selama 192 jam waktu pengamatan.



Gambar 4. Kurva pertumbuhan konsorsium dengan salinitas air laut pada pH 6,8 - 7,2 dan temperatur 28°C.



Gambar 5. Penurunan Konsentrasi TPH untuk Mikroorganisme konsorsium pada pH 6,8 - 7,2 dan temperatur 28°C.

Penurunan Konsentrasi Minyak Bumi pada Berbagai Perlakuan

Persentase degradasi minyak bumi yang paling optimum sebesar 98% terdapat pada konsorsium bakteri dengan salinitas 3% dan TPH 1%, sedangkan persentase degradasi yang paling rendah sebesar 70% terdapat pada *A. hydrophila* dan *A. radiobacter* dengan salinitas 10% dan TPH 10%. Untuk melihat persentase dari masing-masing perlakuan dapat dilihat pada Gambar 5.

Berdasarkan Gambar 3 dan 4 di atas tersebut diatas tampak bahwa tidak ada pola yang jelas yang dapat menghubungkan antara variasi salinitas dan TPH dengan peningkatan biomassa sel. Hal yang sama juga terjadi pada Gambar 5 di atas, yaitu tidak ada pola yang jelas antara variasi salinitas dan TPH dengan persentase degradasi minyak bumi yang terjadi. Hal ini terjadi diduga karena terdapatnya bahan toksik yang mengganggu dalam proses degradasi. Black (1996) dalam Stephen (2003) menyatakan bahwa senyawa toksik dapat mempengaruhi pertumbuhan sel mikroorganisme.

Pada umumnya semakin tinggi salinitas dan konsentrasi TPH maka akan semakin sedikit biomassa sel yang dihasilkan dan semakin rendah persentase degradasi yang terjadi, begitu pula sebaliknya. Hal ini sesuai dengan penelitian Brigmon dan O'Brien, A (2004) yang menggunakan salinitas (10% NaCl) sebagai salah satu faktor penghambat pertumbuhan mikroorganisme pada suhu rendah. Edward (1990) juga menyatakan bahwa faktor penghambat pertumbuhan mikroorganisme antara lain kondisi ekstrem asam atau basa, temperatur, dan konsentrasi garam.

KESIMPULAN

1. Dari hasil isolasi dan identifikasi mikroorganisme pada minyak bumi dari Benakat, diperoleh beberapa spesies mikroorganisme yang dapat mendegradasi minyak bumi, diantaranya adalah *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophila*, *Agrobacterium radiobacter*.
2. Batas maksimum pertumbuhan masing-masing belum dapat ditentukan karena pada setiap variasi salinitas dan TPH yang telah diteliti, mikroorganisme tersebut masih dapat mendegradasi minyak bumi yaitu pada salinitas 3% - 15% dengan TPH maksimum sampai 10%.
3. Penyisihan rata-rata minyak bumi untuk *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 90%, *Aeromonas hydrophila* sebesar 88%, *Agrobacterium radiobacter* sebesar 79%, penggabungan ketiga bakteri 84%, dan mikroorganisme konsorsium sebesar 92%.
4. Pengaruh salinitas terhadap pertumbuhan mikroorganisme tidak terlalu besar karena mikroorganisme diisolasi dari salinitas 15%. Pada penelitian ini penyisihan minyak bumi terbesar yaitu 98% terjadi pada mikroorganisme konsorsium dengan kondisi salinitas 15% dan TPH awal 1% sedangkan penyisihan yang paling rendah yaitu 70% terjadi pada salinitas 10% dan TPH 10%.
5. Dari kurva pertumbuhan mikroorganisme pada temperatur kamar dan pH 6,8 - 7,2 diketahui bahwa mikroorganisme yang bekerja pada awal substrat dan memiliki 2 kali fase eksponensial adalah *Pseudomonas aeruginosa* dengan masa pertumbuhan yang panjang yaitu maksimum selama 84 jam

dan jumlah sel sebesar $2,42E^{+14}$ /ml, sedangkan fase lag hanya 6 jam.

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk salinitas yang lebih tinggi lagi sehingga dapat diketahui batas maksimum mikroorganisme tersebut dapat tumbuh dan mendegradasi minyak bumi.
2. Perlu dilakukan optimasi kondisi temperatur sehingga mikroorganisme tersebut dapat mendegradasi lebih optimum.

DAFTAR PUSTAKA

- Atlas R dan Bartha, R. 1985. *Microbial Ecology*. The Benjamin/cummings Publishing. London. : 11-13
- Brigmon RL dan O'Brian, Andrea. 2004. *Bioremediation of Petroleum and Radiological Contaminated Soil at Savanah River Site : Laboratory to Field Scale Application*. U.S Departement of Energy. Washington D.C
- Chator AKW dan H.J. Somerville. 1978. *The Oil Industry and Microbial Ecosystems*. The Institute of Petroleum. London.
- Cookson Jr, John. T., 1995. *Bioremediation Engineering Design and Application*. Mc Graw Hill, Inc. USA.
- Doerffer J.W. 1992. *Oil Spill Response in The Marine Environment*, Pergamon Press. USA
- Edward, Clive. 1990. *Microbiology of Extreme Environment*. McGraw-Hill. Buckingham.
- Feliatra. 1998. "Isolasi, Identifikasi dan tingkat penguraian produk minyak bumi oleh bakteri pada Perairan Selat Malaka". *Prosiding Seminar "Bioteknologi Kelautan Indonesia I '98"*. Jakarta 14-15 Oktober 1998: 291-303
- Fingas, Merv. 2001. *The Basic of Oil Spill Cleanup*. Lewis Publisher. New York, Washington, D.C.
- Molnaa B.A. dan R.B Grubbs. 2005. *Using Microbial Consortia as a Innoculum*, Solmar Cooperation, USA.
- Stephen T, Abedon. 1999. *Growth and Culturing of Bacteria*. Ohio State University. USA.
- Stephen T, Abedon. 2003. *Microbial Growth*. Ohio State University. USA.
- Udiharto M. 1996. *Bioremediasi Minyak Bumi*. Cibinong. *Prosiding dan Pelatihan Lokakarya "Peranan Bioremediasi dalam Pengelolaan Lingkungan"*. Cibinong 24-28 Juni 1996: 24-39.