

**JURNAL**

**ISOLASI BAKTERI PENDEGRADASI MINYAK DARI SEDIMEN DI  
PERAIRAN SUNGAI PAKNING KABUPATEN BENGKALIS DAN  
KEMAMPUANNYA DALAM MENDEGRADASI MINYAK MENTAH**

**OLEH**

**GINA ULFA FITRIA**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN  
UNIVERSITAS RIAU  
PEKANBARU  
2018**

# ISOLASI BAKTERI PENDEGRADASI MINYAK DARI SEDIMEN DI PERAIRAN SUNGAI PAKNING KABUPATEN BENGKALIS DAN KEMAMPUANNYA DALAM MENDEGRADASI MINYAK MENTAH

Oleh

Gina Ulfa Fitria<sup>(1)</sup>, Nursyirwani<sup>(2)</sup> dan Thamrin<sup>(2)</sup>

Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau Pekanbaru  
Ginaulfa19@gmail.com

## ABSTRAK

Pencemaran minyak disekitar perairan Bengkalis umumnya berasal dari daratan, transportasi laut, aktivitas di pelabuhan penyeberangan dan industri minyak. Polutan minyak akan terperangkap kedalam sedimen karena tidak terlarut dan sulit terdegradasi, sehingga perlu adanya upaya penanggulangan pencemaran seperti bioremediasi. Tujuan penelitian adalah mengisolasi bakteri dari sedimen perairan Sungai Pakning, menguji kemampuan isolat bakteri dalam mendegradasi minyak mentah dan mengidentifikasi isolat bakteri secara molekuler dengan sekuen 16S rRNA. Penelitian dilaksanakan mulai dari bulan Maret-Mei 2018. Isolasi bakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Laut dan uji kemampuan degradasi minyak dilakukan di Laboratorium Kimia Laut Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau. Penelitian ini menggunakan metode survei dan eksperimen, metode survei untuk pengukuran kualitas air, pengambilan sampel dan isolasi bakteri, adapun metode eksperimen untuk menguji kemampuan isolat bakteri dalam mendegradasi minyak mentah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa delapan isolat (7D15, 7D35, 7D23, 14D15, 14D34, 21D13, 21D23, 21D35) mampu mendegradasi *crude oil* dengan konsentrasi 1-3%. Degradasi tertinggi dengan konsentrasi 1% ditunjukkan oleh isolat 21D35, pada konsentrasi 2% ditunjukkan pada isolat 21D13, dan untuk konsentrasi 3% degradasi tertinggi ditunjukkan pada isolat 7D23. Hasil dari identifikasi secara molekuler menggunakan sekuen 16S rDNA diambil tiga isolat yang mempunyai kemampuan degradasi terbaik. Isolat 21D13 memiliki kekerabatan terhadap bakteri *Achromobacter pulmonis*, isolat 21D35 memiliki kekerabatan dengan *Achromobacter* sp., dan isolat 7D23 memiliki kekerabatan terhadap bakteri *Vibrio* sp.

Kata kunci : Sungai Pakning, bakteri pendegradasi minyak, 16 rRNA, *Achromobacter*, *Vibrio*

(1) Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

(2) Dosen Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

# ISOLATION OF OIL DEGRADATION BACTERIA FROM SEDIMENT IN SUNGAI PAKNING WATERS OF BENGKALIS REGENCY AND THE ABILITY TO DEGRADE CRUDE OIL

By

Gina Ulfa Fitria<sup>(1)</sup>, Nursyirwani<sup>(2)</sup> dan Thamrin<sup>(2)</sup>

Faculty of Fisheries and Marine Science University of Riau  
Ginaulfa19@gmail.com

## ABSTRACT

Oil pollution in Bengkalis waters usually comes from land, marine transportation, defection port activities and oil industry. Oil pollution can be trapped in sediment because it can not be dissolved and difficult to degrade, one way to overcome pollution is by bioremediation. The purpose of this research was to isolate bacteria from sediment Sungai Pakning waters, to examine the ability of isolates in degrading crude oil and to identify the bacterial isolates genetically based on sequence 16S rRNA. The research was conducted from March to May 2018. Bacterial isolation was conducted in Laboratory of Marine Microbiology and the oil degradation analysis was conducted in Laboratory of Chemical Oceanography, Faculty of Fishery and Marine Science, University of Riau. This research used survey and experiment method, survey method to measuring of water quality, removal of sample and isolated of bacteria, experiment method to examine the ability of isolates in degrading crude oil. The result showed that eight isolates (7D15, 7D35, 7D23, 14D15, 14D34, 21D13, 21D23, 21D35) were able to degrade crude oil at 1-3% concentrations. The highest degradation at 1% concentration was indicated by 21D35 isolate, at 2% concentration is indicated by 21D13 isolate, and at 3% concentration is indicated by 7D23 isolate. To molecular identification results by the 16S rRNA sequence take of three isolates have the highest degradation ability. 21D13 isolate was similar to *Achromobacter pulmonis*, 21D35 isolate was similar to *Achromobacter* sp., and 7D23 isolate was similar to *Vibrio* sp.

*Keyword : Pakning River, Oil Degradation Bacteria, 16 rRNA, Achromobacter, Vibrio*

---

(1) Student of Faculty of Fisheries and Marine Science University of Riau

(2) Lecturer of Faculty of Fisheries and Marine Science University of Riau

## PENDAHULUAN

Kabupaten Bengkalis sebagai salah satu kabupaten pesisir memiliki panjang garis pantai lebih kurang 722 km yang tersebar di 16 pulau (Pemerintah Kabupaten Bengkalis, 2016). Berdasarkan sifat dan bentuk geografis tersebut, sarana dan prasarana transportasi laut sangat penting dalam usaha meningkatkan perekonomian dan pembangunan di wilayah ini.

Disekitar kawasan Bengkalis juga terdapat industri Migas, salah satunya adalah PT. Pertamina RU II Sungai Pakning dengan aktivitas transportasi, penyimpanan, pengolahan dan distribusi pasokan minyak ke berbagai wilayah di Sumatera melalui angkutan kapal, sehingga perairan Bengkalis sangat rentan dengan terjadinya pencemaran minyak.

Pencemaran minyak dengan rantai karbon panjang biasanya tidak terlarut dan sulit untuk terdegradasi sehingga membahayakan kondisi ekosistem pesisir. Pada tahap awal terjadi tumpahan minyak, minyak dengan fraksi ringan akan menguap, sedangkan fraksi yang lebih berat akan mengendap pada lapisan sedimen dan secara perlahan akan terdegradasi melalui proses photo-oksidasi dan biodegradasi (Thontowi dan Yopi, 2013).

Dampak besar dari pencemaran minyak di sedimen yaitu terhadap organisme dan telur biota laut yang bersifat bentik (di dasar perairan) karena minyak terakumulasi di lapisan dasar dan umumnya beberapa organisme bentik tidak bergerak dan tidak dapat menghindari pencemaran tersebut. Senyawa minyak dapat bersifat toksik apabila terakumulasi dalam sel (Sayuti *et al.*, 2016).

Pencemaran akibat hidrokarbon minyak bumi telah menimbulkan masalah lingkungan yang cukup serius dan perlu pengelolaan yang tepat agar tidak terjadi kerusakan lingkungan yang berkelanjutan, diperlukan metode pengelolaan lingkungan yang ramah lingkungan yaitu dengan memanfaatkan mikroba seperti bakteri.

Bakteri dapat memanfaatkan hidrokarbon dari minyak bumi baik secara

utuh maupun sebagian untuk proses metabolismenya (Sayuti dan Suratni, 2015). Pemanfaatan bakteri hidrokarbonoklastik yang diisolasi langsung dari habitatnya (bakteri *indigenous*) sebagai agen pendegradasi hidrokarbon dapat mempersingkat waktu bioremediasi. Pada lingkungan tidak tercemar minyak kemungkinan keberadaan mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon kurang dari 0.1 % dan pada lingkungan tercemar minyak 100% mikroorganisme berpotensi mendegradasi hidrokarbon (Wenti, 2015).

Yudono *et al.* (2013) telah berhasil mengisolasi bakteri pendegradasi hidrokarbon minyak bumi dari lingkungan PT. Pertamina UBEB Limau Muara Enim dengan sampel berupa air, *sludge* dan tanah yang diambil dari lokasi penampungan limbah. Namun hasil penelitian ini hanya sampai tingkat genus, yaitu diperoleh 4 genera yang terdiri dari *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus* dan *Flavobacterium*.

Sistem identifikasi konvensional yang digunakan pada saat ini membatasi proses identifikasi hanya sampai taksa genus atau sampai spesies untuk beberapa jenis bakteri tertentu. Sementara itu, data di lapangan menunjukkan perubahan database spesies bakteri dari waktu ke waktu. Oleh karena itu, bakteri hidrokarbonoklastik tidak dapat diidentifikasi secara konvensional, perlu adanya analisis rangkaian PCR–penggandaan 16S rDNA untuk mengetahui hubungan kekerabatannya antar jenis atau genus bakteri tersebut.

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri pendegradasi minyak dari sedimen di Perairan Sungai Pakning dan menguji kemampuannya dalam mendegradasi minyak mentah, serta mengidentifikasi isolat bakteri secara molekuler menggunakan sekuen 16rDNA yang dapat digunakan dalam bidang bioteknologi lingkungan dan sebagai agen bioremediasi minyak mentah.

## METODELOGI PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Maret - Mei 2018. Sampel sedimen diperoleh dari dasar perairan Sungai Pakning,

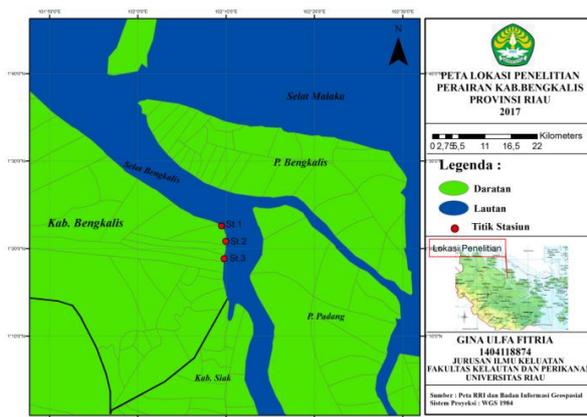
Kabupaten Bengkalis, isolasi bakteri pendegradasi minyak dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Laut dan uji kemampuan degradasi minyak dilakukan di Laboratorium Kimia Laut Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau.

### Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan yaitu metode survei dan eksperimen. Metode survei terdiri dari pengukuran kualitas air, pengambilan sampel sedimen di lapangan dan sampel sedimen yang diperoleh selanjutnya dianalisis dan dilakukan proses isolasi bakteri. Metode eksperimen dilakukan untuk menguji kemampuan isolat bakteri dalam mendegradasi minyak mentah.

### Pengambilan Sampel

Sampel diambil dengan menggunakan metode *purposive sampling* dari 3 stasiun, stasiun 1 di perairan yang tidak ada aktivitas antropogenik, stasiun 2 di pelabuhan penyebrangan ro-ro Sungai Selari dan stasiun 3 di perairan sekitar pelabuhan Pertamina *Marine Region* Sungai Pakning, peta lokasi dapat dilihat pada Gambar 1. Sampel diambil menggunakan sekop atau spatula saat kondisi perairan surut. Untuk menjaga kondisi sampel tidak berubah maka sampel yang dibungkus wadah dimasukkan ke dalam *ice box*.



**Gambar 1. Peta Lokasi Penelitian**

### Isolasi dan Kultur Murni Bakteri

Sampel sedimen ditimbang sebanyak 1g, lalu dimasukkan ke dalam larutan fisiologis (NaCl 0,9%) untuk memperoleh pengenceran  $10^{-1}$  sampai  $10^{-3}$ . Bakteri ditumbuhkan pada media *Stone Mineral Salt*

*Solution* (SMSSe) cair, yang terdiri dari  $\text{CaCO}_3$  (5 g/L);  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (2,5 g/L);  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (1 g/L);  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (0,5 g/L);  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0,5 g/L); 0,02 g  $\text{MnCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0,2 g/L) dan 2% ekstrak *yeast* yang dilarutkan dalam air laut (Sharpley, 1966), kemudian diinkubasi selama 14 hari pada suhu ruang dengan diaduk di atas *shaker* pada kecepatan 120 rpm.

Sampel dari kultur SMSSe cair diambil pada hari ke-1, 7 dan 14. Isolasi dilakukan dengan melakukan pengenceran  $10^{-1}$  sampai  $10^{-5}$  dengan larutan fisiologis 0,9%, sebanyak 0,1 ml hasil pengenceran dibiakkan di atas media SMSSe agar yang mengandung 2% minyak mentah dan 2% bakto agar dengan metode cawan sebar, kemudian diinkubasi pada suhu  $30^\circ\text{C}$  selama 48 jam. Setiap isolat dengan karakteristik berbeda dimurnikan kembali pada SMSSe agar.

Setelah diperoleh isolat bakteri, selanjutnya dilakukan identifikasi bakteri berdasarkan pengamatan morfologi koloni, sifat fisiologis dan uji biokimia. Sifat fisiologis dan biokimia yang dilakukan adalah uji pewarnaan Gram, uji katalase, uji motilitas, uji indol, uji sitrat, uji *Methyl Red*, uji sulfida dan uji penggunaan gula.

### Uji Degradasi dan Analisis Gravimetri

Isolat bakteri yang telah dikultur ke dalam media TSB dispektrofotometer dengan panjang gelombang 620 Hz untuk melihat nilai absorbansinya hingga menyamai nilai kekeruhan *Mc Farland 0,5 Standard* yang setara dengan  $10^{-8}$  CFU/ml. kemudian isolat bakteri tersebut ditambahkan ke dalam medium SMSSe cair (100 ml) yang mengandung minyak mentah 1% (1 ml), 2% (2 ml) dan 3% (3 ml) secara terpisah dan juga tanpa bakteri (kontrol). Kultur diinkubasi pada suhu ruang dan diaduk dalam inkubator *shaker* dengan kecepatan 120 rpm, lalu dilakukan analisis kadar minyak tersisa pada hari ketujuh.

Kadar minyak sisa dari setiap percobaan dianalisis secara gravimetri. Media perlakuan dimasukkan ke dalam corong pisah, ditambahkan 3 ml HCl 3 N dan 40 ml n-hexan kemudian dikocok selama  $\pm 15$  menit sampai terbentuk tiga lapisan yaitu minyak, n-

heksan dan air. Bagian air dibuang, lapisan minyak dan n-heksan disaring dengan kertas saring yang telah diolesi  $\pm 0,5$  g  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ke dalam gelas kimia yang telah ditimbang. Selanjutnya gelas kimia dipanaskan pada suhu  $90^\circ\text{C}$  sampai n-heksan dan airnya habis menguap dan yang tersisa hanya minyak (APHA, 1981). Gelas kimia tersebut diangkat dan didiamkan sampai dingin lalu ditimbang dan dicatat beratnya.

Kadar minyak dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar minyak (g)} = (W_2 - W_1)$$

Dimana:

$W_1$  = berat gelas kimia kering (g)

$W_2$  = berat gelas kimia dengan kadar minyak yang diperoleh (g)

### Analisis Kandungan Minyak pada Sedimen

Prosedur analisis kandungan minyak pada sedimen dilakukan dengan menggunakan metode *Soxhlet* (EPA, 1982). Pada penelitian ini minyak yang diukur adalah total hidrokarbonnya. Prosedur kerja untuk mengetahui kandungan minyak pada sedimen adalah sebagai berikut:

1. Sampel setiap stasiun diletakkan diatas kertas saring dan diberi larutan Natrium Sulfat ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) 1 gram lalu ditimbang untuk mendapatkan berat sampel.
2. Selanjutnya labu ditimbang untuk mendapatkan berat kosong
3. *Soxhlet* dipanaskan terlebih dahulu
4. Selanjutnya labu dimasukkan ke dalam *soxhlet*
5. Sampel yang telah ditimbang selanjutnya dimasukkan kedalam timbel ekstraksi *soxhlet*
6. Pendingin dialirkan melalui kondensor
7. Tabung ekstraksi dipasang pada alat distilasi *soxhlet* dengan pelarut petroleum ether 125 ml per sampel selama 5 jam
8. Setelah 5 jam, larutan petroleum ether yang telah diekstraksi dipindahkan kedalam gelas ukur untuk dilihat sisa larutan yang terpakai, kemudian hasil ekstraksi minyak dalam labu dimasukkan ke oven untuk pengeringan selama 2 jam dengan suhu  $70^\circ\text{C}$  sampai berat konstan

9. Berat residu dalam labu kemudian ditimbang untuk dinyatakan sebagai berat minyak.

Perhitungan kandungan minyak :

$$\% \text{ minyak} = \frac{(B - A)}{C} \times 100 \% = \% \rightarrow \text{ppm}$$

A : berat labu kosong (gram)

B : Berat minyak + berat labu (gram)

C : Berat Sampel (gram)

### Identifikasi Bakteri dengan Analisis Sekuen 16S rRNA

Koloni bakteri pendegradasi minyak yang telah dimurnikan ditumbuhkan pada media cair TSB. Proses identifikasi bakteri dengan sekuen 16S rRNA diawali dengan isolasi DNA bakteri, selanjutnya elektroforesis DNA untuk melihat keberadaan DNA total bakteri dilihat DNA dengan menggunakan UV transmilator. Setelah pita DNA diperoleh kemudian dilakukan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) mereplikasi pita DNA hingga mencapai 1500 bp.

Hasil ekstraksi DNA total dikirim ke PT. Genetika *Science* Indonesia Jakarta Barat untuk selanjutnya dipurifikasi dan disekuensing di *First Base* Malaysia. Hasil dari sekuensing dianalisis BLAST untuk melihat tingkat kemiripan isolat bakteri terhadap jenis-jenis bakteri yang terdaftar dalam *GenBank*.

### Analisis Data

Data hasil isolasi dan uji kemampuan degradasi minyak mentah disajikan dalam bentuk tabel dan grafik. Data kemudian dianalisis secara deskriptif. Untuk mengetahui isolat terbaik dalam mendegradasi minyak mentah dilakukan uji ANOVA dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Jika terdapat perbedaan antara perlakuan, maka dilakukan uji lanjut dengan uji *Least Significance Different* (LSD). Selanjutnya data yang diperoleh dari hasil sekuensing dianalisis menggunakan BLAST melalui website <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> dan program Mega 06.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Keadaan Umum Lokasi Penelitian

Sungai Pakning secara geografis terletak di pesisir timur pulau Sumatera dan berhadapan dengan pulau Bengkalis yang dipisahkan oleh Selat Bengkalis. Pada jalur transportasi laut terdapat fasilitas pelabuhan *ferry*, di sekitar kawasan Sungai Selari juga terdapat kilang Pertamina UP II yang berkapasitas produksi 50 ribu barel per hari. Perairan Selat Bengkalis merupakan perairan yang padat aktivitas manusia dan berhadapan langsung dengan perairan Selat Malaka yang merupakan jalur transportasi internasional yang dilalui oleh kapal-kapal tanker maupun kapal-kapal nelayan.

### Parameter Kualitas Perairan

Pengukuran parameter kualitas perairan pada penelitian ini dilakukan pada masing-masing stasiun. Hasil pengukuran kualitas perairan dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1. Parameter Kualitas Perairan**

No.	Parameter	Stasiun		
		1	2	3
1	Koordinat	1°37'99,4" N 102°14'26" E	1°22'43,7" N 102°08'52,9" E	1°20'41,0" N 102°09'28,1" E
2	Salinitas (ppt)	10	25	20
3	Suhu (°C)	28	28	29
4	pH	6,2	7,9	7,7
6	DO (mg/l)	6,94	6,03	6,87

Suhu perairan Sungai Pakning berada pada kisaran 28-29°C. Menurut Wenti (2012) suhu dapat mempengaruhi lingkungan tumpahan minyak dan aktivitas atau populasi dari mikroorganisme. Umumnya kecepatan degradasi minyak bumi oleh bakteri aerob berlangsung optimum pada suhu berkisar antara 15 – 30°C (Zam, 2010). Kemudian Prasetya *et al* (2016) menyatakan bahwa bakteri yang berpotensi mendegradasi senyawa sulfur aromatik minyak bumi tumbuh dengan baik pada kisaran suhu 30°C.

Derajat keasaman (pH) berkisar antara 6,2-7,9. pH merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi laju pertumbuhan mikroba dan berkaitan dengan aktivitas enzim. Umumnya enzim bekerja optimum pada rentang pH 6-8. Menurut Wenti (2012) tingkat optimal pertumbuhan dan biodegradasi hidrokarbon dapat berlangsung pada keadaan yang cukup

nutrisi, oksigen yang cukup dan pH antara 6 dan 9.

Suhu perairan berkisar antara 6,03 – 6,94 mg/l. Suhu merupakan salah satu parameter penting bagi pertumbuhan bakteri pendegradasi minyak karena sebagian besar mikroorganisme pendegradasi minyak bumi tergolong dalam mikroorganisme aerob. Menurut Filosofia (2011) kandungan DO minimum adalah 2 mg/L dalam keadaan normal dan tidak tercemar oleh senyawa beracun. Kandungan DO minimum ini sudah cukup mendukung kehidupan organisme. Selanjutnya kebutuhan oksigen dapat dipenuhi dengan aerasi yaitu dengan cara pengocokan dengan *shaker* di laboratorium.

### Jumlah Bakteri

Jumlah bakteri pendegradasi minyak yang telah tumbuh pada media SMSSe dilakukan tiga kali pengulangan, dihitung rata-rata jumlah koloninya dan dikelompokkan berdasarkan lokasi pengambilan sampel seperti yang disajikan pada Tabel 2

**Tabel 2. Jumlah Rata-rata Bakteri Pendegradasi Minyak pada Setiap Stasiun**

Titik Sampling	Jumlah Bakteri (CFU/g)
Stasiun 1	$2,13 \times 10^6$
Stasiun 2	$3,9 \times 10^6$
Stasiun 3	$4,12 \times 10^6$

Keterangan : CFU : *Colony Forming Unit*

Jumlah bakteri pendegradasi minyak pada stasiun 3 lebih tinggi dibandingkan dengan stasiun 1 dan 2. Menurut Elyza *et al.*, (2015) laju pertumbuhan bakteri tergantung dengan kondisi substratnya. Apabila kondisi substratnya sesuai, maka laju pertumbuhannya akan dominan, sebaliknya apabila kondisi substrat tidak sesuai maka laju pertumbuhannya akan lambat.

Hal lain dapat juga disebabkan karena pengaruh beberapa faktor, salah satunya adalah unsur-unsur nutrisi. Nutrien harus ada di lingkungan tempat mikroorganisme itu dibiakkan atau setidaknya ditambahkan ke dalam lingkungan tersebut agar mikroorganisme dapat berkembangbiak

dengan cepat dan mendegradasi bahan organik, terutama karbonnya sebagai sumber energi. (Widjajanti *et al.*, 2010)

### Morfologi Koloni Bakteri Pendegradasi Minyak

Hasil pengamatan morfologi 8 isolat bakteri yang akan dilakukan uji biokimia dan uji degradasi terhadap minyak mentah dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Morfologi Koloni Bakteri Pendegradasi Minyak

No	Kode Isolat	Diameter (cm)	Bentuk	Warna	Tepian	Elevasi
1	7D15	0,6	Tak beraturan dan menyebar	Putih kekuningan	Tak beraturan	Datar
2	7D35	0,3	Tak beraturan dan menyebar	Putih susu	Berombak	Datar
3	7D23	0,5	Tak beraturan	Putih susu	Licin	Datar
4	14D15	0,8	Bulat	Putih susu	Licin	Timbul
5	14D34	0,3	Bulat	Putih susu	Licin	Timbul
6	21D13	0,25	Bulat	Putih susu	Licin	Timbul
7	21D23	0,3	Bulat	Putih susu	Licin	Datar
8	21D35	0,2	Bulat	Putih kekuningan	Licin	Timbul

Diameter koloni berkisar antara 0,2-0,8 cm. Pengamatan morfologi koloni bakteri menunjukkan hampir tidak ada perbedaan antara delapan isolat tersebut. Umumnya isolat berbentuk tak beraturan dan bulat, memiliki warna putih susu dengan tepian licin dan sebagian elevasi datar serta ada yang timbul.

### Karakteristik Biokimia Bakteri Pendegradasi Minyak

Uji biokimia dilakukan untuk mengidentifikasi biakan murni isolat bakteri yang diperoleh dengan cara melihat kemampuan bakteri dalam memecah suatu materi untuk proses metabolisme hidupnya. Berikut ini hasil pengamatan uji biokimia dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Karakteristik Biokimia Bakteri Pendegradasi Minyak

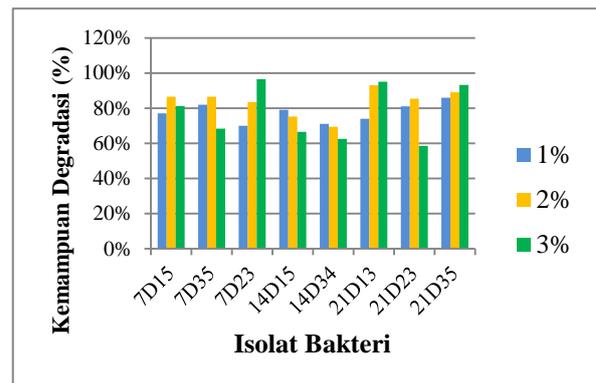
No	Kode isolate	Gram	Katalase	Motilitas	Indol	TSIA		H <sub>2</sub> S	Sitrat	MR
						Tegak	Miring			
1	7D15	-	+	-	+	-	-	+	+	-
2	7D35	-	-	+	+	+	-	-	+	-
3	7D23	-	+	+	+	-	-	+	-	-
4	14D15	-	+	+	+	-	-	-	-	-
5	14D34	-	+	-	+	-	-	-	-	+
6	21D13	-	+	+	-	-	-	-	+	+
7	21D23	-	+	+	-	-	-	-	+	+
8	21D35	-	+	-	-	-	-	-	+	+

Hasil uji biokimia menunjukkan bahwa semua isolat bakteri merupakan bakteri Gram negatif. Hasil dari uji katalase umumnya

isolat bersifat katalase positif, pada uji motilitas terdapat 3 isolat bersifat inmotil. Hasil uji indol dan sitrat terdapat 5 isolat yang bersifat positif, dan pada uji sulfida umumnya bersifat negatif. Berdasarkan hasil uji TSIA hanya terdapat 1 isolat yang mampu memfermentasi glukosa, dan ke-7 isolat lainnya tidak mampu memfermentasi glukosa, laktosa maupun sukrosa.

### Kemampuan Degradasi Bakteri Terhadap Minyak Mentah

Hasil pengamatan uji degradasi dari 8 isolat bakteri terhadap minyak mentah dengan kadar minyak 1%, 2% dan 3% dalam inkubator *shaker* selama 7 hari menunjukkan bahwa semua isolat bakteri yang diuji mampu mendegradasi minyak mentah dengan konsentrasi yang berbeda. Adapun persentase kemampuan degradasi minyak mentah dapat dilihat pada Gambar 1



Gambar 1. Kemampuan Bakteri dalam Mendegradasi Minyak Mentah

Degradasi tertinggi dengan konsentrasi 1% ditunjukkan oleh isolat 21D35, degradasi tertinggi pada konsentrasi 2% ditunjukkan pada isolat 21D13, dan untuk konsentrasi 3% degradasi tertinggi ditunjukkan pada isolat 7D23.

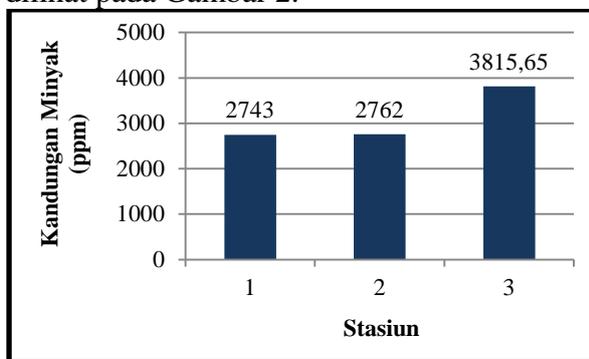
Hasil uji statistik Anova menunjukkan nilai probabilitas signifikansi sebesar 0,26. Jika nilai probabilitas signifikansi > 0,05 maka tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Jadi dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan nyata yang signifikan terhadap pemberian konsentrasi minyak mentah yang diuji.

Menurut Trinanda (2015) kemampuan bakteri mengubah senyawa hidrokarbon menjadi senyawa lain yang tidak membahayakan tergantung dari enzim yang diproduksinya. Pendapat lainnya dari Nugroho (2006) yang menyatakan bahwa adanya perubahan kondisi media degradasi yang berbeda juga menunjukkan kemampuan dan aktivitas bakteri yang berbeda dalam mendegradasi hidrokarbon minyak bumi.

Kemampuan isolat bakteri dalam mendegradasi minyak mentah konsentrasi 3% dapat dikatakan masih bisa mendegradasi minyak bumi, artinya proses degradasi belum selesai. Hal ini didasarkan pada nilai persen degradasi yang tidak terlalu besar, yaitu berkisar 58-95%. Jika waktu degradasi diperpanjang, maka tidak menutup kemungkinan bagi isolat tersebut untuk mencapai persen degradasi yang lebih besar lagi.

#### Kandungan Minyak pada Sedimen

Analisis kandungan minyak pada sedimen digunakan untuk melihat tingkat pencemaran minyak pada dasar perairan Sungai Pakning, kandungan minyak dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2. Kandungan Minyak pada Sedimen**

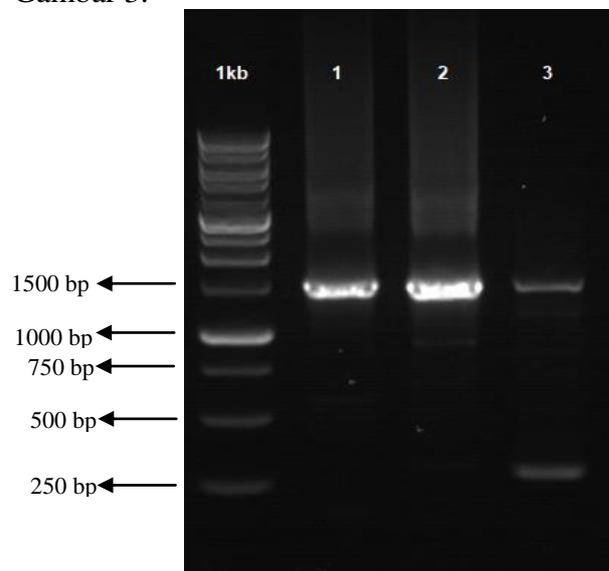
Rata-rata kandungan minyak dalam sedimen di Perairan Sungai Pakning telah melewati ambang batas yang telah ditentukan oleh *National Academy Science dalam Ariani (2012)* yaitu 1-100 ppm. Sehingga dapat dikatakan bahwa perairan ini sudah tercemar dan membahayakan organisme yang hidup pada dasar perairan tersebut.

Menurut Yolantika *et al.*, (2015) jumlah bakteri pemecah hidrokarbon mempunyai korelasi positif dengan kandungan

hidrokarbon dari lingkungan hidupnya. Hal ini sesuai dengan pernyataan Kamaruzzaman *et al.*, (2013) bakteri pemecah minyak mengalami pertumbuhan yang sangat cepat dan jumlah sel banyak pada tanah terkontaminasi minyak daripada tanah yang tidak terkontaminasi minyak.

#### Elektroforesis DNA Bakteri Pendegradasi Minyak

Hasil ekstraksi DNA total dielektroforesis untuk menunjukkan DNA kromosomal yang telah dimurnikan. Hasil elektroforesis DNA dapat dilihat pada Gambar 3.



**Gambar 3. Hasil Elektroforesis Produk PCR 16S rRNA**

Hasil elektroforesis menunjukkan keseluruhan isolat memiliki pita tebal dan tunggal. Tebalnya pita menandakan isolat tersebut memiliki DNA yang cukup untuk analisis sekuens DNA. Menurut Untu *et al.*, (2015) kesuksesan suatu reaksi PCR terlihat melalui *band* atau pita yang dihasilkan ketika hasil amplifikasi divisualisasikan melalui alat UV transiluminator. Besarnya ukuran pita yang dihasilkan adalah sekitar 1500 bp, besarnya ukuran ini sesuai dengan yang diharapkan dari gen-gen 16S rRNA.

#### Sekuensing DNA dan Analisis BLAST

Sekuensing ke 3 isolat menggunakan primer 24F : 5'-AGA GTT TGA TCC TGG CT-3' dan 1541R: 5'- AAG GAG GTG ATC

CAG CCG CA-3'. Bentuk dari hasil sekuensing dari masing-masing isolat dalam bentuk elektroforegram dengan siklus yang terpisah yaitu *forward* dan *reverse*

Sekuens 16S rRNA sampel mikroba yang diperoleh dari hasil sekuensing dibuat dalam bentuk format FASTA untuk memudahkan pemindahan *text* antar *platform* penyunting sekuens DNA ke pencari sekuens *database* GenBank melalui situs <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Hasil

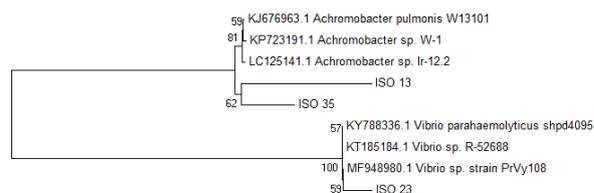
identifikasi 3 isolat bakteri berdasarkan hasil BLAST dapat dilihat pada Tabel 5.

**Tabel 5. Identifikasi Melalui Analisis BLAST**

Isolat	Spesies	Strain	Query Cover	Homologi	Kode Akses
7D23	<i>Vibrio</i> sp.	PrVy108	98 %	99%	MF948980.1
21D13	<i>Achromobacter pulmonis</i>	W13101	100%	94%	KJ676963.1
21D35	<i>Achromobacter</i> sp.	Ir-12.2	99%	96%	KJ676963.1

Berdasarkan hasil pensejajaran sekuen sampel isolat bakteri terhadap sekuen bakteri pembanding diketahui bahwa jumlah basa nukleotida sampel isolat 7D23 yang sama terhadap basa nukleotida *Vibrio* sp. strain PrVy108 adalah 1236 dari 1245 basa, dan terdapat 9 perbedaan pada hasil sekuens sampel isolat dengan sekuen pembandingnya. Perbedaan antara sekuen isolat 21D13 dengan bakteri *Achromobacter pulmonis* strain W13101 adalah adanya 85 basa yang berbeda, dengan jumlah 1246 sekuen yang sama dari 1331 basa. Adapun untuk isolat 21D35 memiliki jumlah basa yang sama terhadap sekuen *Achromobacter* sp. strain Ir-12.2 sebanyak 1386 dari 1432 basa, dan terdapat 46 basa yang berbeda antara sekuen sampel isolat dengan sekuen pembandingnya.

Hasil dari identifikasi secara molekuler menggunakan sekuen 16S rDNA diambil tiga isolat yang mempunyai kemampuan degradasi terbaik. Isolat 21D13 memiliki kekerabatan terhadap bakteri *Achromobacter pulmonis*, isolat 21D35 memiliki kekerabatan dengan *Achromobacter* sp., dan isolat 7D23 memiliki kekerabatan terhadap bakteri *Vibrio* sp. Hasil rekonstruksi pohon filogenetik ditunjukkan pada Gambar 4.



**Gambar 4. Pohon Filogenetik Isolat Bakteri**

Isolat 7D23 memiliki tingkat homologi dengan bakteri *Vibrio* sp. strain PrVy108 sebesar 99% dengan *query cover* 98%. Hasil penelitian Zhang *et al.*, (2017) menyebutkan bahwa bakteri *Vibrio* sp. strain PrVy108 telah berhasil diisolasi dari sedimen disekitar kawasan estuari Pearl River Guangzhou, China. Bakteri ini mampu mendegradasi senyawa polutan jenis *pyrene*. *Pyrene* merupakan golongan senyawa Polisiklik Aromatik Hidrokarbon (PAH) yang memiliki bobot molekul tinggi sehingga sulit terdegradasi di lingkungan.

Isolat 21D13 memiliki tingkat homologi dengan bakteri *Achromobacter pulmonis* strain W13101 sebesar 94%, hal ini menandakan bahwa tingkat kemiripannya hanya sampai tingkat genus dan memiliki nilai *query cover* sebesar 100% yang menunjukkan bahwa *query* dari mikroba-mikroba dalam GenBank hampir mencakup seluruh bagian *query* dari sampel mikroba 21D13. Kemudian isolat 21D35 memiliki tingkat homologi sebesar 96% terhadap bakteri *Achromobacter* sp. strain Ir-12.2 pada database GenBank NCBI.

Dalam penelitian biodegradasi senyawa hidrokarbon menggunakan bakteri, telah dikenal golongan-golongan bakteri yang memiliki kemampuan dalam mendegradasi senyawa tersebut. Diantaranya yang telah dipaparkan oleh Desai dan Vyas (2006) yang menyatakan bahwa *Achromobacter* sp. merupakan bakteri yang mampu mendegradasi senyawa MAH (*Monocyclic Aromatic Hydrocarbons*).

Hasil penelusuran pada kode akses bakteri melalui situs <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> dapat diketahui bahwa bakteri *Achromobacter pulmonis* strain W13101 dan *Achromobacter* sp. strain Ir-12.2 telah berhasil diisolasi dari sedimen

pantai dan air laut serta disebutkan bahwa bakteri tersebut mampu mendegradasi senyawa hidrokarbon.

Hasil penelitian Wang (2014) menyebutkan bahwa *A. pulmonis* strain W13101 merupakan bakteri pendegradasi hidrokarbon dari lingkungan bersalinitas di perairan China. Sedangkan *Achromobacter* sp. strain Ir-12.2 merupakan bakteri pendegradasi minyak yang mampu mendegradasi senyawa n-alkana dan PAHs (*Polycyclic Aromatic Compounds Hydrocarbons*) pada minyak mentah dan mampu tumbuh maksimum pada suhu 42<sup>0</sup>C (Doan *et al.*, 2017).

### KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa delapan isolat (7D15, 7D35, 7D23, 14D15, 14D34, 21D13, 21D23, 21D35) mampu mendegradasi *crude oil* dengan konsentrasi 1-3%. Degradasi tertinggi dengan konsentrasi 1% ditunjukkan oleh isolat 21D35, degradasi tertinggi pada konsentrasi 2% ditunjukkan pada isolat 21D13, dan untuk konsentrasi 3% degradasi tertinggi ditunjukkan pada isolat 7D23. Hasil dari identifikasi secara molekuler menggunakan sekuen 16S rDNA diambil tiga isolat yang mempunyai kemampuan degradasi terbaik. Isolat 21D13 memiliki kekerabatan terhadap bakteri *Achromobacter pulmonis*, isolat 21D35 memiliki kekerabatan dengan *Achromobacter* sp., dan isolat 7D23 memiliki kekerabatan terhadap bakteri *Vibrio* sp.

Untuk penelitian selanjutnya, disarankan untuk melakukan perbandingan uji antara bakteri tunggal dan bakteri konsorsium dalam pendegradasian *crude oil*, dan disarankan untuk menguji degradasi terhadap senyawa lain seperti fenol dan solar.

### DAFTAR PUSTAKA

APHA. 1981. Standart and Methoda.7<sup>th</sup> Edition. California: Cumming Publishing Company Inc.

Ariani, F. 2012. Analisis Kandungan Minyak pada Air dan Sedimen di Perairan Sekitar Bungus Teluk Kabung Kota Padang Sumatera Barat. Skripsi Universitas Riau. Pekanbaru

Desai A., P. Vyas. 2006, Petroleum and Hydrocarbon Microbiology. M S University Baroda, India.

Doan C.P.D, A. Sano, H.Tamaki, H.N.D. Pham5, Xo .H. Duong, and Y. Terashima. 2017. Identification and biodegradation characteristics of oil-degrading bacteria from subtropical Iriomote Island, Japan, and tropical Con Dao Island,Vietnam. TROPICS. 25(4): 1-13.

Elyza F, N. Gofar, Munawar. 2015. Identifikasi dan Uji Potensi Bakteri Lipolitik dari Limbah SBE (*Spent Bleaching Earth*) Sebagai Agen Bioremediasi. Jurnal Ilmu Lingkungan 13 (1): 12-18.

EPA (*Environmental Monitoring and Support Laboratory*) 1982. Methods for Chemical Analysis of Water and Wastes. Cincionoti, Ohio.

Filosofia. 2011. Biodegradasi Dispersan Tumpahan Minyak dengan Metode Doc Die-Away dan Metode Botol Tertutup. Skripsi. Departemen Kimia FMIPA Institut Pertanian Bogor.

Kamaruzzaman, Muyassir dan Syafruddin. 2013. Pengaruh Nutrisis dan Bakteri *Pseudomonas fluorescens* Terhadap Mikroorganisme Pendegradasi Hidrokarbon pada Entisol. 1(1) : 10-15.

Nugroho A. 2006. Biodegradasi Sludge Minyak Bumi dalam Skala Mikrokosmos: Simulasi Sederhana sebagai Kajian Awal Bioremediasi Land Treatment. Makara Teknologi 10:82-89.

Prasetya I.P.H, I.B.W. Gunam, N.S. Antara. 2016 Isolasi Bakteri Potensial Pendegradasi Dibenzotiofena dari Tanah Tercemar Minyak Bumi di Buluh Telang Langkat Sumatera Utara. Artikel Teknologi Pertanian Unud

Sayuti I, Y.I. Siregar, B. Amin, A. Agustien.2016. Isolasi Bakteri Indigen

- Minyak Bumi dari Gas Boot di Petapahan Riau. Prosiding Pelestarian Lingkungan dan Mitigasi Bencana.
- Sayuti I. dan Suratni. 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Hidrokarbonoklastik dari Limbah Cair Minyak Bumi Gs Cevron Pasifik Indonesia di Desa Benar Kecamatan Rimba Melintang Rokan Hilir. Prosiding Semirata Universitas Tanjungpura Pontianak.
- Sharpley, J.M. 1966. Elementary Petroleum Microbiology, Gulf Publishing Company, Texas, 6595:115-117
- Thontowi A, dan Yopi. 2013. Keragaman Bakteri Laut Pendegradasi Alkana dan Poliaromatik Hidrokarbon di Pulau Pari Jakarta. Jurnal Biologi Indonesia 9 (1): 131-140
- Trinanda .R. 2015. Efektivitas Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon Minyak Berat Yang Diisolasi Dari Ekosistem Air Hitam Tanjung Jabung Timur, Jambi. Disertasi Institut Pertanian Bogor.
- Untu P., I. F. M. Rumengan, E. L. Ginting. 2015. Identifikasi Mikroba yang Koeksis Dengan *Ascidia Lissoclinum patella* Menggunakan Sekuens Gen 16s rRNA. Jurnal Pesisir dan Laut Tropis. 2 (1): 23-33.
- Wenti M. J. S. 2012. Biodegradasi *Oil Sludge* dengan Variasi Lama Waktu Inkubasi dan Jenis Konsorium Bakteri Yang Diisolasi Dari Lumpur Pantai Kenjeran. Skripsi. Departemen Biologi Universitas Airlangga.
- Widjajanti H, I. Anas, N. Gofar, M.R. Ridho. 2010. Formulasi Konsorium Kapang dan Bakteri Hidrokarbonoklastik Asal Kawasan Mangrove Tercemar Minyak Bumidand Potensinya dalam Biodegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi. Prosiding *Integrated Lowland Development and Management*. Universitas Sriwijaya, Palembang. C7-1. ISBN 978-979-25-8652-7
- X.,Wang. 2014. Diversity of Culturable Hydrocarbons-degrading Bacteria in Saline Environment. Tianjin University, China
- Yolantika H, Periadnadi, dan Nurmiati. 2015. Isolasi Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon di Tanah Tercemar Lokasi Perbengkelan Otomotif. Jurnal Biologi Universitas Andalas (J. Bio. UA.). 4(3) :153-157.
- Yudono B, S.P. Estuningsih, M.Said, Sabaruddin, A. Napoleon. 2013. Eksplorasi Bakteria Indigen Pendegradasi Limbah Minyak Bumi di Wilayah PT Pertamina UBEP Limau Muara Enim. Prosiding Semirata FMIPA. Universitas Lampung.
- Zam, S. A. 2010. Biodegradation of Diesel Oil Production of Fafly Acid Esters by a Newly Isolated *Pseudomonas Citronellolis* KHA. World Journal of Microbiology and Biotechnology 25:65-70
- Zhang S, H. Wang, C. Sun. 2017. Pyrene-degrading Bacteria 16S rRNA gene sequence. Journal of Front Microbiol 9: 225

