

JURNAL

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENGHASIL BIOSURFAKTAN
PADA SEDIMEN DI PERAIRAN DESA MENGKAPAN KECAMATAN
SUNGAI APIT KABUPATEN SIAK PROVINSI RIAU**

OLEH

MARTHA NOVIA KRISTINA M



**FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN
UNIVERSITAS RIAU
PEKANBARU
2019**

Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Penghasil Biosurfaktan Pada Sedimen Di Perairan Desa Mengkapan Kecamatan Sungai Apit Kabupaten Siak Provinsi Riau

Martha Novia Kristina M¹⁾, M. Hasbi²⁾ Eko Purwanto²⁾
Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau
Email : marthasimanullang1@gmail.com

ABSTRAK

Kegiatan pengeboran minyak bumi, pelabuhan dan kebocoran pipa bawah laut menyebabkan polusi minyak di wilayah pesisir Desa Mengkapan. Polutan minyak akan terbawa oleh gelombang dan mengendap ke sedimen dan dapat menyebabkan perubahan genetik pada mikroorganisme yang ada di sedimen. Adanya pencemaran minyak dapat memicu mutasi gen pada bakteri tertentu dan diduga dapat menghasilkan biosurfaktan untuk mendegradasi minyak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bakteri penghasil biosurfaktan dalam sedimen di wilayah pesisir Desa Mengkapan yang dilakukan dari bulan Maret hingga Mei 2018. Terdapat 2 stasiun, di area pengeboran minyak bumi (St1) dan di pelabuhan Tanjung Buton (St2). Karakteristik morfologi dan biokimia menunjukkan bahwa terdapat 3 spesies bakteri, yaitu *Bacillus* sp, *Proteus* sp dan *Pseudomonas* sp. Indeks emulsifikasi *Bacillus* sp adalah 42,85%, *Pseudomonas* sp adalah 53%, dan *Proteus* sp adalah 25%, menunjukkan bahwa semua bakteri yang diperoleh berpotensi untuk memproduksi biosurfaktan.

Kata Kunci : *Polutan Minyak, Pseudomonas sp, Indeks Emulsifikasi, Biodegradasi*

- 1) Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau
- 2) Dosen Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau

**Isolation And Identification Of Biosurfactant Producing Bacteria In
Sediments From The Coastal Area Of Mengkapan Village, Sungai
Apit Distict, Siak Regency, Province Of Riau**

By :

Martha Novia Kristina M¹⁾ , M. Hasbi ²⁾ Eko Purwanto ²⁾
Fisheries and Marine Science Faculty, Riau University
Email: marthasimanullang1@gmail.com

ABSTRACT

The activities of petroleum drilling, ferry ports and leakages of underwater pipeline caused oil pollution in the coastal area of the Mengkapan Village. The oil pollutant will be carried by the waves and settles to the sediment and it may causing genetic changing in the microorganisms present in the sediment. The presence of oil pollution may trigger gene mutation in specific bacteria and it may be able to produce biosurfactants for degrading the oil. A study aims to investigate of biosurfactant producing bacteria in the sediment of the coastal area of Mengkapan Village was conducted from March to May 2018. There were 2 stations, in the petroleum drilling area (St1) and in the Tanjung Buton port (St2). Morphological and biochemical characteristics shown that there were 3 bacteria species, namely *Bacillus* sp, *Proteus* sp and *Pseudomonas* sp present. Emulsification Index of the *Bacillus* sp was 42,85%, the *Pseudomonas* sp was 53%, and *Proteus* sp was 25%, indicating that all bacteria obtained were potential for producing biosurfactant.

Keyword : Oil pollutant ,*Pseudomonas* sp , Emulsification Index, Biodegradation

- 1) *Student of the Fisheries and Marine Science Faculty, Riau University*
- 2) *Lecturer of the Fisheries and Marine Science Faculty, Riau University*

PENDAHULUAN

Eksplorasi minyak bumi yang semakin meningkat serta adanya ceceran minyak bumi pada peristiwa kecelakaan tanker dapat menyebabkan pencemaran minyak di perairan Selat Malaka (Feliatra dalam Parulian 2010).

Desa Mengkapan adalah salah satu daerah yang memiliki aktivitas pengeboran minyak bumi oleh perusahaan PT. Energi Mega Persada (EMP) Malacca Strait yang mengeluarkan ceceran minyak ke perairan.

Pencemaran minyak juga terjadi dari aktivitas kapal di pelabuhan, yang dapat menyebabkan tumpahan minyak saat pengisian minyak pada tangki kapal. Pengeboran minyak bumi di laut lepas menimbulkan semburan maupun sisa pengeboran minyak ke perairan yang menyebabkan pencemaran.

Pencemaran minyak diperairan laut lepas terbawa ke bibir pantai karena adanya pasang surut laut, sehingga minyak dapat menempel pada sedimen di pantai. Residu minyak diperairan menyebabkan terjadinya mutasi gen terhadap bakteri. (Morgan, 1910 dalam Warianto, 2011) mengatakan bahwa mutasi (perubahan materi genetik) dapat terjadi akibat adanya pengaruh yang tidak jelas, baik dari lingkungan luar maupun dari internal organisme itu sendiri yang disebut sebagai mutasi spontan.

Biosurfaktan merupakan surfaktan yang dihasilkan oleh bakteri yang mampu mendegradasi kandungan minyak bumi (Kurniati, 2016). Bakteri penghasil biosurfaktan banyak ditemukan pada daerah yang tercemar minyak maupun lemak

(Parra *et al.*, dalam Riupassa *et al.*, 2012).

Laporan tentang koleksi bakteri penghasil biosurfaktan pada lokasi pertambangan minyak, perairan yang tercemar minyak mentah dan perairan pelabuhan di Provinsi Riau di nilai masih sedikit. Maka dari itu penulis tertarik untuk melakukan penelitian dalam mengisolasi dan identifikasi bakteri pada sedimen dari ceceran minyak di perairan Desa Mengkapan Kecamatan Sungai Apit Kabupaten Siak Provinsi Riau.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui isolat bakteri yang berpotensi menghasilkan biosurfaktan pada sedimen di perairan Desa Mengkapan Kecamatan Sungai Apit Kabupaten Siak Provinsi Riau.

METODE PENELITIAN

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode survey yang dimana pengambilan sampel langsung pada sedimen di perairan yang sudah tercemar. Isolasi dan seleksi bakteri penghasil biosurfaktan dilakukan di laboratorium.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sedimen pada perairan yang terkontaminasi minyak. Adapun media pertumbuhan yang digunakan untuk percobaan ini adalah *Stone Mineral Salt Solution extract yeast* (SMSSe) yang terdiri dari CaCO_3 , NH_4NO_3 , $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, bacto agar, ekstrak ragi, air laut 20⁰/₀₀ yang diperoleh dari toko Aquarium di Jalan Delima Pekanbaru dan solar 0.1ml.

Alat-alat yang digunakan adalah tabung reaksi, cawan petri, jarum ose, bunsen, gelas beaker, batang L, *erlenmeyer*, gelas ukur,

spatula, micropipet, kertas saring, *vortex*, *autoclave*, *shaker incubator*, kulkas, *coolbox*, timbangan analitik dan *incubator*, botol kaca 100gr.

Prosedur Penelitian

Sterilisasi

Alat dan bahan yang akan digunakan terlebih dahulu dilakukan sterilisasi yaitu dengan masukkannya ke dalam autoklaf dengan suhu 121⁰C tekanan 2 atm selama 15 menit. Sterilisasi bertujuan untuk menghilangkan mikroorganisme yang ada pada alat sehingga alat steril.

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan dengan metode *purposive sampling* pada sedimen yang terkontaminasi dengan minyak mentah terlihat dari adanya genangan air yang jika terpapar cahaya matahari seperti ada warna pelangi yaitu merah, hijau, kuning. Sampel sedimen diambil pada kedalaman 10-20 cm menggunakan sekop kecil atau sendok steril. Selanjutnya sampel disimpan ke dalam botol kaca steril sebanyak 100gr.

Isolasi dan Pemurnian Bakteri

Sampel sedimen dengan pengenceran hingga 10⁻³ dimasukkan kedalam gelas ukur yang sudah berisi media SMSSe kemudian di *shaker* kedalam inkubator *shaker* selama 3 hari. Selanjutnya sebanyak 1 ml air sampel yang telah di *shaker* kemudian diencerkan kedalam 9 ml NaCl sampai pengenceran 10⁻⁶ kemudian sampel yang sudah diencerkan ditumbuhkan kedalam media SMSSe padat.

Sampel kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 30⁰C. Hasil koloni yang tumbuh dilakukan perhitungan koloni dengan metode *plate counts* dengan cara menghitung

jumlah koloni dan faktor pengencerannya. Kemudian dilakukan pengamatan berdasarkan karakteristik morfologinya mulai dari ukuran, bentuk, warna dan bentuk permukaan maupun tepi dari koloni bakteri tersebut.

Identifikasi Isolat

Identifikasi isolat dilakukan dengan mengamati bentuk morfologi koloni dan selanjutnya dilakukan uji biokimia.

Uji Seleksi Bakteri Biosurfaktan

Untuk mengetahui bakteri penghasil surfaktan maka dilakukan uji emulsifikasi.

Aktivitas Emulsifikasi yaitu dengan mengambil 1 ml hasil fermentasi kedalam tabung reaksi yang berisi 1 ml minyak mentah dan di *vortex* selama 2 menit. Selanjutnya dibiarkan selama 24 jam dan diukur tinggi busanya. Kemudian diukur indeks emulsifikasi dengan menggunakan rumus (Cooper dan Goldenberg 1987).

Untuk menghitung indeks emulsifikasi digunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Indeks Emulsifikasi}_{24} = \frac{\text{Tinggi Lapisan Emulsi}}{\text{Tinggi Lapisan Minyak} + \text{Tinggi Supernatan}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat Bakteri

Isolasi bakteri pada sampel sedimen yang diambil dari stasiun 1 kawasan mangrove dan stasiun 2 kawasan pelabuhan Tanjung Buton kemudian dikayakan dan ditumbuhkan pada media buatan. Jumlah koloni bakteri pada stasiun 1 sekitar 2.050.000 CPU/mg sedangkan jumlah koloni bakteri pada stasiun 2 sekitar 2.500.000 CPU/mg. Kelimpahan bakteri lebih banyak di stasiun 2 yaitu kawasan pelabuhan Tanjung Buton. Aktivitas pelabuhan, bongkar

muat barang di pelabuhan serta adanyaeceran minyak menyebabkan pencemaran perairan.

Hal tersebut berpotensi meningkatkan kadar polusi hidrokarbon pada sedimen yang ada disekitar pelabuhan. Kelimpahan mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon yang terdapat di alam berbanding lurus dengan peningkatan kada polusi hidrokarbon (Walker dan Colwell dalam Nugroho, 2006).

Karakteristik Koloni Bakteri

Koloni isolat dibedakan berdasarkan pengamatan warna, bentuk, tepian, elevasi, bentuk sel, serta uji biokimia. Bentuk koloni bakteri dengan warna, tepian, elevasi dapat dilihat pada Tabel 1 :

Tabel 1. Bentuk, warna, tepian dan elevasi koloni bakteri yang telah dimurnikan

Isolat	Bentuk	Warna	Tepian	Elevasi	
SeI1St1		Tidak beraturan	Putih	Bergelombang	Cembung
SeI2St1		Bulat dipinggiran terdapat bening	Kuning bagian Cerah	Bergelombang	Cembung
SeI4St2		Bulat Penuh	Putih	Licin	Cembung

Semua isolat memiliki elevasi yang timbul, namun terdapat satu isolat yang bentuknya tidak beraturan dengan memiliki tepian yang bergelombang. Dua isolat lainnya berbentuk bulat, ada yang bulat penuh ada pula yang berbentuk bulat namun disekelilingnya terdapat zona bening yang tipis. Isolat SeI1St1 bentuk koloninya tidak beraturan berwarna putih dan tepiannya bergelombang/berombak dan elevasinya timbul.

Koloni isolat SeI2St1 bentuknya bulat, berwarna kuning

cerah kemudian tepian bergelombang, terdapat zona bening dan elevasinya timbul. Koloni isolat SeI4St2 bentuk koloninya bulat berwarna putih tepiannya licin, elevasinya timbul dan pada bagian pinggir koloni.

Uji Biokimia

Ketiga isolat bakteri yang telah ditemukan kemudian dilakukan uji biokimia yang bertujuan untuk mengetahui jenis bakteri tersebut. Hasil Uji Biokimia dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Uji Biokimia Pada Isolat

Isolasi	SeI1St1	SeI2St1	SeI4St2
Uji Biokimia			
Pewarnaan Gram	Positif	Negatif	Negatif
Bentuk Sel	Batang	Batang	Batang
Katalase	+	+	+
Oksidasi	-	+	+
Indol	-	+	-
Mortilitas	-	+	+
H ₂ S	-	-	-
TSIA	K/M	K/M	M/M
Glukosa	+	+	-
Laktosa	+	-	-
Sukrosa	+	-	-

Dari hasil uji biokimia dapat diketahui bahwa isolat SeI1St1 merupakan bakteri *Bacillus* sp. Adapun ciri-cirinya memiliki bentuk koloni bulat, tepian koloni berombak, elevasi nya cembung, warna koloni. Menurut (Holt, *et al* 1994 dalam Sabdaningsih, 2013) mengatakan bakteri *Bacillus* sp merupakan bakteri gram positif, memiliki warna koloni putih susu dengan tepian berombak. Bakteri ini juga bersifat

aerobik, katalase dan oksidasi positif. Indol negatif dan mampu berfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa. Bakteri ini hidup pada suhu optimum pada 28⁰C-35⁰C.

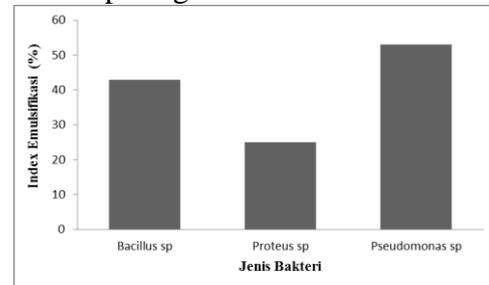
Dari hasil uji biokimia dapat diketahui bahwa isolat SeI2St1 merupakan bakteri *Proteus* sp. Dari uji biokimia isolat tersebut termasuk kedalam pewarnaan gram positif, bentuk sel batang, nilai katalase positif, oksidasi positif, indol negatif dan dari uji TSIA menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu berfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa. Bakteri *Proteus* sp merupakan bakteri gram negatif yang memiliki bentuk sel batang (Utari *et al.*, 2015). Berbeda dengan isolat SeI4St2 yang bernama *Pseudomonas* sp.

Dari uji biokimia isolat tersebut termasuk kedalam pewarnaan gram positif, bentuk sel batang, nilai katalase positif, oksidasi positif, indol negatif dan dari uji TSIA menunjukkan bahwa bakteri tersebut tidak mampu berfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa. Menurut Tantrip dan Sirichom (2011), bakteri *Pseudomonas* sp memiliki morfologi bakteri berbentuk batang, gram negatif, katalase positif, oksidasi positif.

Hasil Uji Emulsifikasi

Dari hasil emulsifikasi dapat dilihat bahwa ketiga isolat merupakan bakteri biosurfaktan. Biosurfaktan merupakan bakteri yang mampu mendegradasi minyak. Hal tersebut terlihat dari adanya lapisan busa untuk mendegradasi minyak pada uji emulsifikasi. Hasil uji emulsifikasi menunjukkan bahwa bakteri *Bacillus* sp mampu mendegradasi minyak solar sebanyak 42,85%, bakteri *Proteus* sp sebanyak

25% dan bakteri *Pseudomonas* sp sebanyak 53% lebih tinggi dari bakteri lainnya. Selanjutnya perhitungan hasil emulsifikasi ditabulasikan kedalam grafik, dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 1. Hasil Emulsifikasi

Berdasarkan grafik tersebut dapat dilihat bahwa ketiga isolat tersebut mampu mendegradasi minyak solar. Campuran minyak dan air sampel yang dikocok dengan kecepatan tinggi mengakibatkan minyak dan air akan tercampur. Kemampuan bakteri dalam 1 ml akan terlihat dari banyaknya emulsi yang dihasilkan untuk dapat mencegah pemisahan campuran minyak dan lemak.

Kualitas Air

Adapun kualitas air pada dua stasiun tempat pengambilan sampel dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 3. Kualitas Air pada lokasi penelitian

No.	Parameter	Stasiun 1	Stasiun 2
1.	Suhu	30 ⁰ C	29 ⁰ C
2.	pH	6	7
3.	Salinitas	21	23
4.	Minyak dan Lemak	0,027	0,03

Kualitas air pada stasiun 1 yaitu kawasan mangrove suhu berkisar 30⁰C dan suhu pada stasiun 2 yaitu kawasan pelabuhan Tanjung

Buton berkisar 29°C . Suhu perairan pada kedua stasiun tersebut masih dalam keadaan yang baik untuk pertumbuhan bakteri. Berdasarkan baku mutu KepMen LH no. 51 tahun 2004 menyatakan bahwa suhu 28°C - 31°C baik untuk pertumbuhan biota. Suhu sangat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme yang ada pada sedimen.

Tingkat keasaman (pH) merupakan salah satu faktor dalam pertumbuhan bakteri. pH pada daerah penelitian menunjukkan dengan angka 6 dan 7, hasil tersebut masih dalam hal wajar untuk pertumbuhan bakteri. Menurut (Charlena *et al.*, 2011) pH yang baik untuk pertumbuhan bakteri yaitu berkisar 6 sampai 8. Pertumbuhan bakteri pada pH rendah atau dalam keadaan asam mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan bakteri. Pertumbuhan bakteri terjadi pada pH netral yaitu 6,8 – 7,2 (Hasbi, 2006).

Salinitas perairan pada stasiun 1 berkisar $21^{\circ}/_{00}$ berbeda halnya dengan stasiun 2 salinitas berkisar $23^{\circ}/_{00}$. Salinitas pada stasiun 1 lebih rendah dari salinitas stasiun 2 karena stasiun 1 masih dipengaruhi oleh sungai/rawa yang bermuara pada kawasan mangrove sehingga mempengaruhi kadar salinitas pada stasiun tersebut. Berbeda halnya dengan stasiun 2 yang memiliki salinitas lebih tinggi dari stasiun 1 dikarenakan kawasan Pelabuhan Tanjung Buton tidak dipengaruhi oleh sungai/atau rawa.

Minyak dan lemak di sedimen pada stasiun 1 sebanyak 0,027 sedangkan pada stasiun 2 sebanyak 0,03. Kadar minyak dan lemak yang ada pada stasiun 1 lebih sedikit dibandingkan dengan stasiun

2. Hal tersebut berbeda dikarenakan pada stasiun 1 merupakan kawasan mangrove yang kondisinya tidak selalu terpapar oleh pencemaran minyak diperairan. Berbeda halnya dengan kondisi pada stasiun 2 yaitu lokasi pelabuhan yang dimana banyak aktifitas kapal sehingga paparan minyak selalu terjadi.

Adanya paparan minyak yang selalu masuk dan mengendap kedalam sedimen maka mikroorganisme akan mengalami perubahan genetik dan mampu beradaptasi pada kondisi tersebut sehingga mikroorganisme mampu mendegradasi minyak.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari hasil isolasi yang dilakukan terdapat 3 isolat bakteri yang menghasilkan biosurfaktan. isolat yang didapat dibedakan berdasarkan bentuk morfologi koloni, selanjutnya dilakukan identifikasi dengan cara uji biokimia sehingga diperoleh 3 genus bakteri dari hasil isolat tersebut.

Isolat 1 SeI1St1 dengan genus *Bacillus* sp mampu mengemulsi minyak mencapai 42,85%, isolat 2 SeI2St1 dengan genus *Proteus* sp mampu mengemulsi minyak mencapai 25% dan isolat 3 SeI4St4 dengan genus *Pseudomonas* sp mampu mengemulsi minyak mencapai 53%.

Saran

Perlu dilakukan uji selanjutnya untuk bakteri yang berpotensi menghasilkan biosurfaktan yaitu identifikasi dengan uji DNA untuk mengetahui spesies bakteri yang didapat secara spesifik. Isolat bakteri yang berpotensi menghasilkan biosurfaktan perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui

kemampuan bakteri dalam mengurangi minyak dengan skala laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

- Hasbi, M dan Gunawan, Tabrani. 2006. Meningkatkan Produksi Biosurfaktan Bakteri Bacillus Maceran Strain Ts9-8 Dengan Perlakuan Faktor Lingkungan (Ph, Suhu Dan Suplai Oksigen). Jurnal. ISSN 1907-0500
- Kurniati, T. 2016. Bakteri Penghasil Biosurfaktan Dari Lingkungan Tercemar Limbah Minyak Dan Potensinya Dalam Mendegradasi Hidrokarbon Aromatik Polisiklik (Hap). Disertasi. Tidak Diterbitkan. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Nugroho, A. 2006. Bioremediasi Sludge Minyak Bumi dalam Skala Mikroskopis: Simulasi Sederhana Sebagai Kajian Awal Bioremediasi Land Treatment. Jurnal Makara Teknologi. 10(2) : 82-89.
- Parulian, Sandro Donnie. 2010. Pemanfaatan Isolat Bakteri Penghasil Biosurfaktan dalam Menurunkan Cemaran Minyak di Perairan. Skripsi. Tidak Diterbitkan. Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau. Pekanbaru.
- Riaupassa, *et al.*, 2010. Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Penghasil Biosurfaktan Asal Limbah Rumah Potong Ayam Tradisional Di Kota Malang. Skripsi. Tidak Diterbitkan. Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Program Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya. Malang
- Sabdaningsih, *et al.*, 2013. Isolasi Dan Karakterisasi Morfologi Koloni Bakteri Asosiasi Alga Merah (Rhodophyta) Dari Perairan Kutuh Bali. Jurnal Biologi. 2(2) : halaman 11-17
- Tantrip, R and Sirichom T., 2011. Isolation of Proteolytic, Lipolitic and Biomulsifying Bacteria for Improvement of the Aerobic Treatment of Poultry Processing Wastewater. African Journal of Microbiology Research. 5(30)
- Utari, S. A. S. S., Laksmi, Darmayasa, I. B. Gede, Suyasa, dan I. W. Budiarsa. 2015. Isolasi, identifikasi dan uji potensi bakteri yang berperan pada pengolahan air limbah yang mengandung rhodamin B dalam biosintesis tanaman. Jurnal Simbiosis. 3(1): 301- 312.
- Warianto. 2011. Keterampilan Proses Sains. Kencana Prenada Media Group. Jakarta.