

JURNAL

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENGHASIL BIOSURFAKTAN
DARI AIR KOLAM *FILTER* LIMBAH MINYAK, PT. BUMI SIAK
PUSAKO – PERTAMINA HULU, SIAK.**

OLEH

SRI AYU ELSI MAITA



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

Isolasi dan identifikasi bakteri penghasil biosurfaktan dari air kolam *filter* limbah minyak PT. Bumi Siak Pusako – Pertamina Hulu, Siak

Oleh :

Sri Ayu Elsi Maita¹⁾, Hasbi²⁾, Eko Purwanto²⁾
Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau
Email : sriayuelsimaita@gmail.com

Abstrak

Biosurfaktan adalah senyawa surfaktan yang dihasilkan oleh mikroorganisme dan memiliki kemampuan untuk mengurangi tegangan permukaan perairan. Untuk mengetahui jenis bakteri penghasil biosurfaktan, penelitian ini dilakukan pada bulan Maret 2018. Bakteri penghasil biosurfaktan diambil dengan menggunakan botol kaca pada 6 titik sampling di kolam penyaringan limbah PT. Bumi Siak Pusako – Pertamina Hulu dan disimpan di lemari pendingin pada suhu 4°C. Sampel kemudian diencerkan dan ditumbuhkan pada media BHI (*Brain Heart Infusion*) selama 24 jam. Setelah itu, sampel diidentifikasi dengan menggunakan metode biokimia dan 16 sr RNA. Jumlah koloni yang didapatkan dari sampel adalah $3,1 \times 10^6$ cfu/ml. Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa bakteri yang telah diidentifikasi menghasilkan busa setelah dilakukan uji emulsifikasi. Spesies dari bakteri tersebut diantaranya *Klebsiella* sp, *Citrobacter* sp dan *Aeromonas* sp. Bisa diketahui bahwa isolat bakteri yang diperoleh dari kolam pengolahan air limbah minyak PT Bumi Siak Pusako - Pertamina Hulu mampu menghasilkan biosurfaktan.

Kata Kunci :Surfaktant, mikroorganisme, tegangan permukaan, *Klebsiella* sp, *Citrobacter* sp, *Aeromonas* sp, biokimia, 16 sr RNA

¹⁾ Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau

²⁾ Dosen Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau

Isolation and identification of biosurfactant producing bacteria from wastewater treatment pool of Bumi Siak Pusako – Pertamina Hulu Ltd, Siak

By :

Sri Ayu Elsi Maita¹⁾, Hasbi²⁾, Eko Purwanto²⁾
Faculty of Fisheries and Marine Science, University of Riau
Email : sriayuelsimaita@gmail.com

Abstract

Biosurfactants are surfactant compounds produced by microorganisms and it has capability to reduce surface tension of water. To understand the types of biosurfactant producing bacteria, a research has been conducted in March 2018. Samples were taken with glass bottles at 6 sampling points in the wastewater treatment pool of Bumi Siak Pusako – Pertamina Hulu, Ltd and stored on the refrigerator at 4°C. The samples were serially diluted and enriched with BHI (Brain Heart Infusion) media for 24 hours. Then this bacteria was identified biochemically and using a 16 sr RNA method. Results shown that the number of colonies obtained was 3.1×10^6 cfu/ml. After the emulsification test, 3 isolates were able to produce foam, they were *Klebsiella* sp, *Citrobacter* sp and *Aeromonas* sp.

Keywords : *surface tension, Klebsiella* sp, *Citrobacter* sp, *Aeromonas* sp, 16 sr RNA, emulsification

¹⁾ Student of the Faculty of Fisheries and Marine Science, University of Riau

²⁾ Lecture of the Faculty of Fisheries and Marine Science, University of Riau

PENDAHULUAN

Provinsi Riau dikenal sebagai salah satu Provinsi penghasil minyak terbesar di Indonesia, dengan kekayaan Provinsi ini tentu memikat berbagai Negara untuk mencoba menggali dan mengolah hasil kekayaan ini sesuai pengetahuan dan teknologi mereka yang lebih maju dari Negara Indonesia, terlihat dari adanya beberapa industri besar yang mengolah hasil minyak tersebut. Pertamina adalah salah satu produsen minyak mentah terbesar di Indonesia melalui kegiatan operasi salah satunya di Riau. Perusahaan ini telah bekerja sama dengan mitra-mitra lain untuk menciptakan efek ekonomi berganda dari kegiatan operasi ke seluruh Indonesia.

Pencemaran yang disebabkan oleh minyak mentah terhadap perairan yang bersumber dari berbagai aktivitas baik dari eksplorasi, penggunaan, *transportasi* maupun akibat tumpahan dari peristiwa kecelakaan tanker merupakan isu lingkungan yang serius mengancam dunia. Tumpahan minyak harus dikelola agar pencemaran lingkungan dapat dihindari. Limbah lumpur minyak bumi (LMB) merupakan limbah akhir dari serangkaian proses dalam industri pengilangan minyak bumi (Maneerat *and* Phetrong, 2007).

Bioremediasi merupakan salah satu upaya untuk mengurangi bahan pencemar. Biodegradasi hidrokarbon oleh mikroorganisme (bakteri dan jamur) telah diketahui sebagai mekanisme utama dalam proses eliminasi senyawa hidrokarbon di laut (Ni'matuzahroh, 1999). Menurut Franci *et al* (1991) satu faktor yang sering membatasi kemampuan mikroorganisme dalam mendegradasi

senyawa hidrokarbon adalah sifat kelarutannya yang rendah, sehingga sulit mencapai sel mikroorganisme. Upaya yang umum dilakukan untuk meningkatkan kelarutan hidrokarbon adalah dengan pemberian surfaktan sintetis. Penggunaan surfaktan ini menimbulkan masalah bagi organisme hidup karena bersifat toksik, non-degradable serta dapat menghambat proses degradasi oleh mikroorganisme.

Alternatif lain yang digunakan untuk meningkatkan kadar biodegradasi hidrokarbon pada minyak yang terdapat di perairan adalah dengan penggunaan biosurfaktan yang tidak sintesis atau berasal dari makhluk hidup. Penggunaan surfaktan yang dihasilkan oleh mikroorganisme ini mempunyai keuntungan lebih dibanding penggunaan surfaktan sintetis, karena sifatnya yang tidak toksik dan lebih mudah didegradasi oleh mikroorganisme (Richana *et al.*, 1998). Biosurfaktan merupakan komponen mikroorganisme yang terdiri atas molekul hidrofobik dan hidrofilik, yang mampu mengikat molekul hidrokarbon tidak larut air dan mampu menurunkan tegangan permukaan (Koch *et al.*, 1991).

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret - Juni 2018. Pengambilan sampel dilakukan satu kali pada kolam *filter* limbah minyak bumi PT. Bumi Siak Pusako – Pertamina Hulu, sampling dilakukan pada pagi hari pukul 10.00 WIB. Secara geografis, kolam filter ini terletak pada titik koordinat 00°40' LU dan 102°00' BT. Lokasi pengambilan sampel bertempat di

Jln. Zamrud, Kecamatan Dayun, Kabupaten Siak, Riau, Indonesia (Lampiran 1). Isolasi dan identifikasi bakteri dilakukan di Laboratorium Kesehatan dan Lingkungan, Pekanbaru dan untuk isolasi DNA dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kimia, Universitas Riau. Setelah dicetak sampel dikirim ke Jakarta, tepatnya PT. Genetika Sains untuk dilakukan identifikasi bakteri menggunakan Metode PCR (Polymerase chain reaction) 16S rDNA.

Prosedur Penelitian

Lokasi pengambilan sampel ditentukan menggunakan *random sampling*, dimana titik pengambilan sampel dilakukan secara acak di lokasi yang dianggap dapat mewakili seluruh kawasan kolam. Kolam ini merupakan kolam penyaringan limbah minyak bumi, dari kolam *Centralized Land Treatment Support* (CLTS) menuju ke kolam penampungan sementara. Air pada kolam ini mengandung sedikit minyak dan telah ditumbuhi lumut dan rumput. Airnya bewarna agak keruh dan tidak berbau. Air dari kolam filter ini berasal dari limbah minyak bumi kolam CLTS.

Sampel diambil sesuai dengan penetapan lokasi sampling. Sampel diambil sebanyak 150 ml pada masing-masing titik sampling. Sampel diambil dipermukaan air dengan mencelupkan botol kaca steril berukuran 150 ml kedalam air secara langsung. Pengambilan sampel hanya dilakukan sekali. Sampel diambil di permukaan air karena diasumsikan bakteri Biosurfaktan berada di permukaan air. Sampel yang telah diambil pada keenam titik kemudian digabung/kompositkan ke dalam

botol kaca berukuran 1 liter lalu ditutup tidak begitu rapat (agar O₂ tetap bisa masuk). Sampel air kemudian dimasukkan ke dalam *cool box* dan diberi es batu. Setelah itu dibawa ke laboratorium untuk dianalisis.

Sampel air yang sudah diambil dimasukkan ke dalam botol kaca dan diberi label. Sampel air kemudian dimasukkan ke dalam *cool box* dan diberi es batu. Setelah sampai di Pekanbaru sampel tersebut kemudian dimasukkan ke dalam kulkas dengan suhu 4°C dan siap untuk dianalisis di laboratorium.

Bakteri diisolasi secara biokimia dan diidentifikasi dengan menggunakan dua metode, yaitu biokimia dan 16srDNA. Isolasi dan identifikasi bakteri secara biokimia merujuk pada buku Atlas Berwarna Mikrobiologi Kedokteran (Hart and Shears, 1997). Identifikasi bakteri dengan metode PCR 16S rDNA mengacu pada buku *16S Ribosomal RNA Sequence-based Identification of Veterinary Clinical Bacteria* (Cai, Archambault and Prescott, 2003).

Berdasarkan metode Alaerts dan Santika (1984), pengukuran suhu dilakukan secara *in situ* dengan menggunakan thermometer alkohol. Pengukuran dilakukan dengan cara mencelupkan thermometer alkohol di permukaan perairan selama beberapa menit sehingga muncul angka yang konstan kemudian dilakukan pencatatan angka tersebut. Pengukuran pH perairan dilakukan dengan menggunakan pH indikator. Pengukuran dilakukan dengan mencelupkan pH Indikator tersebut ke dalam perairan dan dilihat angka yang ditunjukkan pada pH Indikator (Alaerts dan Santika, 1984).

Minyak dan lemak merupakan komponen utama bahan

makanan yang juga banyak didapatkan pada air limbah. Pengukuran kadar minyak lemak dilakukan dengan metode analisis gravimetri. Analisis gravimetri adalah cara analisis kuantitatif berdasarkan berat tetap (berat konstan). Dalam analisis ini, unsur atau senyawa yang di analisis di pisahkan dari sejumlah bahan yang di analisis. Bagian terbesar analisis gravimetri menyangkut perubahan unsur atau gugus dari senyawa yang di analisis menjadi senyawa lain yang murni dan stabil, sehingga dapat diketahui berat tetapnya (Rohman, 2007).

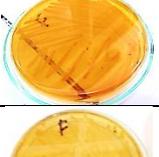
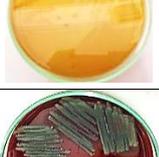
Analisis Data

Analisis data dilakukan secara deskriptif. Bakteri diidentifikasi dengan menggunakan dua metoda, yaitu biokimia dan 16S rRNA. Pada identifikasi bakteri dengan metode biokimia, hasil gula-gula yang didapatkan ditabulasikan kedalam bentuk tabel. Sedangkan pada identifikasi bakteri dengan metode 16S rRNA, hasil sekuensing DNA dicocokkan kedalam kode DNA yang terdapat pada software.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, diperoleh bahwa bakteri yang dihasilkan dari air limbah kolam filter minyak bumi dapat tumbuh dan berkembang pada media uji. Media uji tersebut berupa Blood Agar dan Mac Conkey Agar. Bakteri diisolasi berdasarkan bentuk dan warna koloni. Sebelum diisolasi, sampel diencerkan terlebih dahulu lalu dikultur dengan menggunakan media BHI selama 24 jam. Sampel yang telah diinkubasi selama 24 jam didapatkan 3 koloni berwarna merah, putih susu dan abu-abu. Koloni

tersebut kemudian dimurnikan kembali dan diinkubasi selama 24 jam. Hasil dari pemurnian tersebut dikelompokkan seperti dalam tabel 1. **Tabel 1.** Hasil Isolasi Bakteri pada Media *Blood Agar* dan *Mac Conkey Agar*

No.	Media	Gambar
1.	Blood Agar	
2.	Blood Agar	
3.	Blood Agar	
4.	Blood Agar	
5.	Blood Agar	
6.	MCA	

Dari gambar pada tabel 1 dapat dilihat bahwa bakteri pada media *blood agar* berwarna merah muda dan putih susu sedangkan pada media MCA berwarna abu-abu.

Dalam perhitungan jumlah mikroorganisme ini seringkali digunakan pengenceran. Pada pengenceran, botol cairan terlebih dahulu dikocok dengan baik sehingga kelompok sel dapat terpisah. Pengenceran sel dapat membantu untuk memperoleh perhitungan jumlah mikroorganisme yang benar, namun pengenceran yang terlalu tinggi akan

menghasilkan lempengan agar dengan jumlah koloni yang umumnya relatif rendah (Hadioetomo, 1990).

Pada penelitian ini, bakteri dihitung secara langsung dengan menggunakan kertas petrifilm. Sebelum dihitung, sampel diencerkan terlebih dahulu sebanyak 5 kali pengenceran dengan pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} dan 10^{-5} . Jumlah bakteri dari masing-masing pengenceran dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Perhitungan Jumlah Bakteri

No	Pehitungan	Jumlah
1.	10^{-1}	≥ 3 Juta Cfu/ml
2.	10^{-2}	≥ 3 Juta Cfu/ml
3.	10^{-3}	$7,5 \times 10^6$ Cfu/ml
4.	10^{-4}	$1,36 \times 10^6$ Cfu/ml
5.	10^{-5}	$3,47 \times 10^5$ Cfu/ml

Penghitungan jumlah bakteri merujuk kepada buku Atlas Bewarna Mikrobiologi Kedokteran karya Tony Hart dan Paul Shears (1997) dengan metode *Plate Count*. Dari tabel diatas, dapat kita ketahui bahwa jumlah bakteri pada pengenceran 10^{-1} dan 10^{-2} adalah ≥ 3 juta Cfu/ml dan tidak bisa dihitung secara manual. Sedangkan perhitungan jumlah bakteri pada pengenceran 10^{-3} didapatkan dengan jumlah $3,47 \times 10^5$ Cfu/ml, pada pengenceran 10^{-4} didapatkan jumlah $1,36 \times 10^6$ Cfu/ml dan pada pengenceran 10^{-5} didapatkan jumlah $7,5 \times 10^6$ Cfu/ml.

Uji emulsifikasi bertujuan untuk menentukan apakah bakteri tersebut menghasilkan biosurfaktan atau tidak. Bakteri menghasilkan biosurfaktan apabila pada tabung reaksi menghasilkan busa setelah di *vorteks*. Uji ini dilakukan dengan cara memvorteks isolat sebanyak 3 ml supernatant dan 1 ml minyak

tanah. Setelah itu didiamkan selama 5 menit agar busa yang dihasilkan stabil. Setelah stabil di ukur tinggi dari busa yang terdapat pada tabung reaksi. Uji emulsifikasi dilakukan pada 2 koloni berbeda. Hasil ini dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Pengukuran Tinggi Emulsi

No.	Nama Koloni	Gambar	Hasil Pengukuran
1.	Koloni 1		1 cm
2.	Koloni 2		1,3 cm
3.	Koloni 3		1,3 cm

Dari hasil uji emulsifikasi diatas diketahui bahwa ketiga bakteri menghasilkan biosurfaktan. Hal ini diketahui dari tinggi busa setelah stabil yang dihasilkan oleh kedua isolat. Pada isolat pertama tinggi busa setelah stabil adalah 1 cm, sedangkan pada busa kedua dan ketiga tinggi busa setelah stabil adalah 1,3 cm. Semakin tinggi busa yang dihasilkan, maka semakin tinggi pula emulsi yang dihasilkan oleh bakteri tersebut dan semakin baik bakteri tersebut dalam mendegradasi limbah minyak diperairan, begitupun sebaliknya.

Uji identifikasi bakteri dapat dilakukan dengan berbagai cara, baik manual maupun otomatis (dengan bantuan alat/mesin). Salah satu uji identifikasi bakteri secara manual yang sering dilakukan adalah dengan menggunakan uji biokimia. Uji biokimia adalah pengujian larutan atau zat-zat kimia dari bahan-bahan dan proses-proses yang terjadi dalam tubuh makhluk hidup, sebagai upaya untuk memahami proses kehidupan dari sisi kimia (Lehninger, 1995).

Uji fisiologi biasanya identik dengan uji biokimia. Uji biokimia yang biasanya dipakai dalam kegiatan identifikasi bakteri atau mikroorganisme antara lain uji katalase, koagulase, dan lain-lain. Pengujian biokimia merupakan salah satu hal yang sangat penting dalam dunia mikrobiologi (Lim, 1998). Uji-uji biokimia yang biasanya dipakai dalam kegiatan identifikasi bakteri atau mikroorganisme yaitu antara lain adalah uji MR-VP, uji gula-gula, uji SIM, Uji TSIA, Uji Indol, dan Uji Simmons Citrate (Dwidjoseputro, 1954).

Bakteri yang telah diemulsifikasi dan dinyatakan menghasilkan biosurfaktan kemudian diidentifikasi dengan menggunakan metode biokimia. Hasil dari uji biokimia tersebut dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Biokimia

N o.	Hasil	<i>Klebsiella</i> sp	<i>Citrobacter</i> sp.
1.	TSIA	K/M	K/M
2.	SIM	-	-
3.	Urea	-	+
4.	Cit	+	+
5.	Glu	+	+
6.	Lak	-	-
7.	Man	+	+

8.	Suk	+	-
9.	GR	-	-
10.	Kat	+	+
11.	Ok	-	-
12.	Ind	-	-

Keterangan:

- TSIA = *Triple Sugar Iron Agar*
- K/M = Kuning/Merah
- SIM = *Sulfida Indole Motility*
- Cit = Citrat
- Glu = *Glukosa*
- Lak = Laktosa
- Man = Mangan
- Suk = Sukrosa
- GR = Gram Batang
- Kat = Katalase
- Ok = Oksidase
- Ind = Indol

Hasil dari uji biokimia kemudian dicocokkan dengan ciri bakteri yang terdapat dalam buku Atlas Berwarna Mikrobiologi Kedokteran karya Tony Hart dan Paul Shears (1997). Dari 2 isolat didapatkan 2 jenis bakteri yaitu *Klebsiella* sp dan *Citrobacter* sp.

Metode sekuensing telah mengalami perkembangan yang cukup pesat. Perkembangan teknologi saat ini telah memungkinkan dilakukannya analisis terhadap jutaan sekuens DNA per tahun. Kualitas analisis sekuensing sangat tergantung pada faktor kecepatan prosedur kerja dan teknologi yang digunakan. Identifikasi mikroorganisme dilakukan dengan menumbuhkan bakteri dari berbagai spesimen klinis pada media tertentu (Amman, 1995).

Pada metode mikrobiologi konvensional membutuhkan waktu

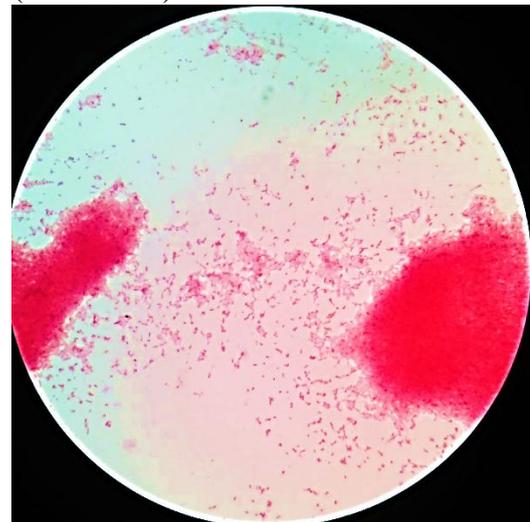
yang lama pada saat identifikasi berdasarkan karakteristik fisiologis dan biokimianya sedangkan pada identifikasi berbasis molekuler melalui analisis sekuensing, waktu yang dibutuhkan jauh lebih singkat. Langkah analisis sekuensing dimulai dengan mengisolasi DNA dari kultur bakteri, baik kultur padat maupun cair. DNA yang diperoleh akan dijadikan sebagai cetakan dalam tahap amplifikasi dengan PCR. Primer yang digunakan dalam PCR adalah primer 16S rRNA yang bersifat universal berukuran sekitar 1500 pb, sehingga dapat mengamplifikasi daerah 16S rRNA dari seluruh bakteri. Produk PCR dimurnikan terlebih dahulu dengan menggunakan kit komersial untuk menghilangkan sisa-sisa primer serta fragmen nukleotida (Clarridge, 2004).

Isolat yang telah murni diambil dan dibawa ke laboratorium untuk di Isolasi. Setelah itu dicetak dengan proses amplifikasi lalu di kirim ke Jakarta untuk dianalisis menggunakan PCR. Hasil kode *genetic* tersebut kemudian dicocokkan dengan kode yang terdapat pada aplikasi yang ada di komputer, dan didapatkan hasil genus *Aeromonas* dengan spesies *Aeromonas* sp.

Identifikasi bakteri dilakukan dengan dua cara yaitu manual dan otomatis (menggunakan alat). Cara manual dengan menggunakan metode Biokimia, sedangkan otomatis dengan metode PCR (Polymerase chain reaction) 16S rDNA. Pengujian jenis bakteri hanya dilakukan dengan 3 isolat bakteri saja. Hal ini dikarenakan keterbatasan biaya dan waktu. Selain itu, ketiga jenis bakteri tersebut juga sudah dianggap mewakili jenis

bakteri penghasil biosurfaktan yang terdapat pada kolam filter limbah minyak BOB PT. Bumi Siak Pusako – Pertamina Hulu. Adapun jenis bakteri yang didapatkan pada metode Biokimia adalah *Klebsiella* sp (Isolat 1) dan *Citrobacter* sp (Isolat 2). Sedangkan hasil uji dengan metode PCR (Polymerase chain reaction) 16S rDNA, didapatkan bakteri dengan jenis *Aeromonas* sp (Isolat 2).

Bakteri *Klebsiella* sp berasal dari *family Enterobacteriaceae*. *Klebsiella* pertama kali diteliti dan diberi nama oleh *bacteriologist* asal Jerman yang bernama Edwin Klebs (1834-1913).



Gambar 6. Hasil pengamatan bakteri *Klebsiella* sp di mikroskop

Media *Blood agar* termasuk salah satu media isolasi primer. Media ini merupakan media pertumbuhan bakteri yang dapat membedakan bakteri patogen berdasarkan efek exotoksin hemolitik bakteri pada sel darah merah. Media *Blood agar* adalah media yang diperkaya dengan nutrisi tambahan yang kaya untuk mikroba. Oleh karena itu, media *Blood agar* merupakan media pertumbuhan diperkaya dan selektif diferensial, karena mendukung pertumbuhan

berbagai organisme serta dapat memberi ciri yang khas untuk bakteri golongan tertentu. Bakteri *Klebsiella* sp tumbuh pada media ini, kelompok ini menghasilkan koloni berwarna merah muda. Sedangkan pada media *Mac Conkey* tidak ditemukan bakteri *Klebsiella* sp yang tumbuh.

Uji ini bertujuan untuk menentukan karbohidrat yang terdapat pada bakteri. Gula-gula ini terdiri atas TSIA (media uji), SIM (*Sulfida Indole Multility*), Urea, Citrat, Glukosa, Laktosa, Mangan dan Sukrosa. Hasil uji gula-gula ini kemudian dicocokkan dengan buku Atlas Berwarna Mikrobiologi Kedokteran karya Tony Hart dan Paul Shears (1997). Adapun hasil dari uji gula-gula bakteri *Klebsiella* sp, dapat dilihat pada tabel 4.

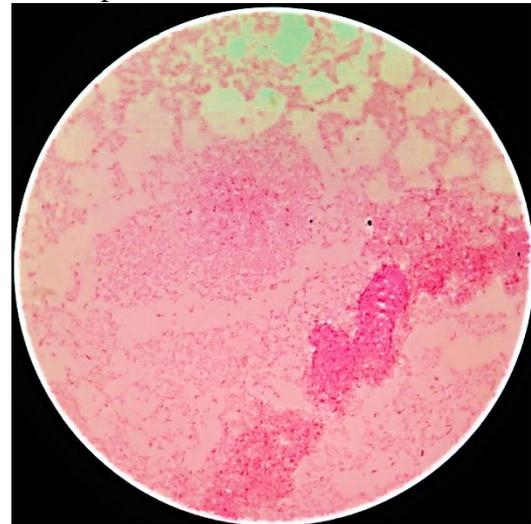
Uji indol untuk menilai pembentukan indol oleh bakteri dari triptopan sebagai sumber karbon. Bila positif menghasilkan warna merah sedangkan apabila negatif menghasilkan warna kuning. Pada uji indol yang dilakukan, *Klebsiella* sp menghasilkan warna kuning yang berarti negatif.

Uji Oksidasi digunakan untuk mengetahui apakah bakteri memiliki enzim oksidasi atau tidak. Hasil uji oksidasi dari bakteri *Klebsiella* sp menunjukkan bahwa bakteri tersebut tidak memiliki enzim oksidasi.

Uji katalase digunakan untuk mendeteksi adanya enzim katalase. Enzim ini terdapat pada sel - sel yang mempunyai metabolisme aerobik. Bakteri anaerob tidak mempunyai enzim katalase, begitu juga sebaliknya. Hasil uji bakteri *Klebsiella* sp menunjukkan bahwa bakteri ini mempunyai enzim katalase.

Citrobacter sp berasal dari family *Enterobacteriaceae*.

Citrobacter pertama kali diteliti dan diberi nama oleh Werkman dan Gillen pada tahun 1932.



Gambar 7. Hasil pengamatan bakteri *Citrobacter* sp di mikroskop

Bakteri *Citrobacter* sp tumbuh pada media ini, kelompok ini menghasilkan koloni berwarna kuning susu. Sedangkan pada media *Mac Conkey* tidak ditemukan bakteri *Citrobacter* sp yang tumbuh. Hasil dari uji gula-gula bakteri *Citrobacter* sp, dapat dilihat pada tabel 4 dan 5. Pada uji indol yang dilakukan, *Citrobacter* sp menghasilkan warna kuning yang berarti negatif. Hasil uji oksidasi dari bakteri *Citrobacter* sp menunjukkan bahwa bakteri tersebut tidak memiliki enzim oksidasi. Hasil uji bakteri *Citrobacter* sp menunjukkan bahwa bakteri ini mempunyai enzim katalase.

Bakteri *Aeromonas* sp berasal dari family *Aeromonadaceae*. *Aeromonas* pertama kali diteliti dan diberi nama oleh Stanier pada tahun 1943.



Gambar 8. Isolasi Bakteri di cawan petri

Identifikasi bakteri ini dilakukan dengan menggunakan Metoda DNA. Isolat yang telah murni diisolasi kembali di laboratorium, setelah itu dicetak dengan metode amplifer. Setelah cetakan kering, bakteri tersebut kemudian dikemas dan dikirim ke Jakarta untuk dilakukan identifikasi. Hasil kode *genetic* identifikasi kemudian dicocokkan dengan kode dan didapatkan jenis *Aeromonas* sp.

Parameter lingkungan merupakan data pendukung dalam penelitian ini. Pengukuran kualitas perairan bertujuan untuk mengetahui nilai kualitas perairan dalam bentuk fisika dan kimia. Kualitas perairan memiliki pengaruh yang besar terhadap kelangsungan hidup suatu organisme perairan seperti termasuk bakteri. Parameter lingkungan yang digunakan sebagai data penelitian ini ada 3 jenis, yaitu: suhu, pH dan minyak lemak. Berikut adalah hasil pengukuran kualitas perairan yang diukur selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Pengukuran Kualitas Air di Kolam filter Limbah Minyak

Parameter	Satuan	Keterangan
Suhu	°C	40
pH	-	6

Parameter	Satuan	Keterangan
Lemak	µg/L	14.000
Minyak		

Hasil pengukuran suhu air pada kolam filter adalah 40°C (Tabel 6). Hal ini menunjukkan bahwa kondisi suhu pada kolam ini cukup hangat untuk perkembangan bakteri. Kondisi suhu ini salah satunya disebabkan oleh intensitas cahaya matahari saat pengambilan sampel penelitian. Suhu air pada kolam filter mendukung kehidupan ketiga jenis bakteri yang telah diidentifikasi.

Nilai derajat keasaman (pH) pada air kolam filter limbah minyak yaitu 6 sehingga tergolong normal dan baik bagi kelangsungan hidup organisme. Nilai pH yang didapatkan menunjukkan bahwa air pada kolam bersifat asam, tetapi masih dapat mendukung kehidupan bakteri yang telah ditemukan.

Hasil pengukuran kadar minyak lemak dari air kolam filter limbah minyak bumi adalah 14 mg/L atau 14.000 µg/L. Menurut Peraturan Menteri Lingkungan Hidup Republik Indonesia No. 19 Tahun 2010 tentang Baku Mutu Air Limbah bagi usaha atau kegiatan minyak dan gas serta minyak bumi, dapat kita ketahui bahwa kolam filter limbah minyak bumi PT. Bumi Siak Pusako – Pertamina Hulu telah memenuhi persyaratan, dimana kadar maksimum minyak lemak limbah ini dengan metode pengukuran SNI 06-6989.10-2004 adalah 25 mg/L untuk limbah produksi dan 15 mg/L untuk limbah drainase.

Bioremediasi merupakan penggunaan mikroorganisme untuk mengurangi polutan di lingkungan. Saat bioremediasi terjadi, enzim-enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme memodifikasi

polutan beracun dengan mengubah struktur kimia polutan tersebut, sebuah peristiwa yang disebut biotransformasi. Pada banyak kasus, biotransformasi berujung pada biodegradasi, dimana polutan beracun terdegradasi, strukturnya menjadi tidak kompleks, dan akhirnya menjadi metabolit yang tidak berbahaya dan tidak beracun.

Sejak dahulu, orang-orang sudah menggunakan mikroorganisme untuk mengolah air pada saluran air. Saat ini, bioremediasi telah berkembang pada perawatan limbah buangan yang berbahaya (senyawa-senyawa kimia yang sulit untuk didegradasi), yang biasanya dihubungkan dengan kegiatan industri. Yang termasuk dalam polutan-polutan ini antara lain logam-logam berat, petroleum hidrokarbon, dan senyawa-senyawa organik terhalogenasi seperti pestisida, herbisida, dan lain-lain.

Pencemaran lingkungan oleh hidrokarbon minyak bumi terus mengalami peningkatan dan telah menimbulkan dampak yang berarti bagi makhluk hidup. Bioremediasi adalah salah satu upaya untuk mengurangi polutan tersebut dengan bantuan organisme. Biodegradasi senyawa hidrokarbon dari minyak bumi ini dapat dilakukan oleh mikroorganisme, salah satunya adalah bakteri penghasil biosurfaktan.

Biosurfaktan merupakan komponen mikroorganisme yang terdiri atas molekul hidrofobik dan hidrofilik, yang mampu mengikat molekul hidrokarbon tidak larut air dan mampu menurunkan tegangan permukaan. Selain itu biosurfaktan secara ekstraseluler menyebabkan emulsifikasi hidrokarbon sehingga

mudah untuk didegradasi oleh bakteri.

Dengan adanya biosurfaktan, substrat yang berupa cairan akan teremulsi dibentuk menjadi misel-misel, dan menyebarkannya ke permukaan sel bakteri. Substrat yang padat dipecah oleh biosurfaktan, sehingga lebih mudah masuk ke dalam sel. Pada penelitian ini, pemanfaatan bakteri biosurfaktan tidak dikaji lebih lanjut dan lebih rinci, dan diharapkan kajian tentang pemanfaatan bakteri biosurfaktan ini dapat dilakukan pada penelitian lanjutan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan, didapatkan jumlah total koloni bakteri sebanyak $3,1 \times 10^6$ Cfu/ml. Bakteri ini kemudian diidentifikasi sebanyak 3 isolat dan didapatkan jenis *Klebsiella* sp, *Citrobacter* sp dan *Aeromonas* sp. Ketiga bakteri ini merupakan bakteri penghasil biosurfaktan karena menghasilkan emulsi/busa saat dilakukan uji emulsifikasi. Identifikasi bakteri ini menggunakan metode Biokimia dan 16Sr DNA. Bakteri *Aeromonas* sp dan *Citrobacter* sp menghasilkan emulsi yang lebih banyak dan diduga lebih baik dalam mengatasi pencemaran perairan akibat limbah minyak.

Saran

Penelitian mengenai bakteri, terutama bakteri penghasil Biosurfaktan tidak akan selesai dengan hanya beberapa penelitian saja. Penelitian ini akan tetap berlanjut dengan tema yang tetap berkesinambungan. Perlu adanya penelitian lebih lanjut akan bakteri penghasil biosurfaktan

sebagai salah satu cara mengurangi pencemaran minyak yang terdapat diperairan., khususnya di Provinsi Riau

DAFTAR PUSTAKA

- Clarridge, J.E., 1989. Impact Of 16S rRNA Gene Sequence Analysis For Identification of Bacteria on Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Clinical Microbiology Reviews*. 17 (4): 840-862.
- Dwidjoseputro. 1998. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta : Djambatan. 23 hal.
- Hadiutomo.1990. *Mikrobiologi Dasar Jilid I*. Jakarta: Erlangga. pp. 60-63.
- Koch, A. K., Kappeli O., Fiechter A. and Reiser J., 1991. Hydrocarbon Assimilation and Biosurfactant Production in *Pseudomonas aeruginosa* Mutans, *J bacterial*. (13), United State of America. pp. 114-160.
- Maneerat, S. and Phetrong K., 2007. Isolation of biosurfactant-producing marine bacteria and characteristics of selected biosurfactant Songklanakarin J. *Sci. Technol*. 29 hal.
- Ni'matuzahroh, 1999. Pencarian Strain Bakteri Hidrokarbonoklastik di Kawasan Perairan Pantai Surabaya. Laporan Penelitian, Lembaga Penelitian UNAIR, Surabaya. 78 hal.
- Phale, P.S., Savithri, H.S., Rao, N.A., and Vaidyanathan, C.S., 1995. Production of Biosurfactant "Biosur-Pm" by *Pseudomonas maltophilia* CSV89: Characterization and Role in Hydrocarbon Uptake. *Arch. Microbial*. 163:424-431.
- Richana N, Helena Y.M, Ani S, dan Tun Tedja I., 1998. Produksi Biosurfaktan Lipopeptida oleh Isolat Bakteri Indigenous. *Prosiding Seminar Pertemuan Ilmiah Tahunan: Peranan Mikrobiologi Dalam Agroindustri Untuk Menunjang Ketahanan Pangan Nasional*: pp. 191–198.
- Rohman, Abdul. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta. Pustaka Pelajar. 37 hal.
- Roslina. 2009. *Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Protease Termofilik dari Sumber Air Panas Sipoholon Tapanuli Utara Sumatera Utara*. Thesis. Sekolah Pascasarjana Universitas Sumatera Utara : Medan. 34 hal.