

Isolasi Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon di Tanah Tercemar Lokasi Perbengkelan Otomotif

Isolation of the Hydrocarbon Degrading Bacteria in the Contaminated Soil of the Automotive Workshop

Hezi Yolantika, Periadnadi^{*)} dan Nurmiati

Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas, Kampus Limau Manis, Padang-25136

^{*)}Koresponden: periadnadi@fmipa.unand.ac.id

Abstract

The research related to Isolation of the Hydrocarbon Degrading Bacteria in the Contaminated Soil of the Automotive Workshop was conducted from May to October 2014 at Laboratory of Microbiology, Biology Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Andalas University. The aimed of this study was to find the bacteria able to degradate the hydrocarbon from the lubricating oil contaminated soil and to describe characterization of isolates. This study used a survey method in isolation and characterization of hydrocarbon degrading bacteria. The result obtained that the bacteria able to degradate the hydrocarbon from the lubricating oil contaminated soil about 39.02% (1.6×10^5 cfu/g). Five isolates were found (BTTO₁, BTTO₂, BTTO₃, BTTO₄ and BTTO₅) has a rod shaped, Gram-negative, motile and positive catalase.

Keywords : *isolation, characterization, hydrocarbon degrading bacteria, lubricating oil, contaminated soil*

Pendahuluan

Minyak bumi merupakan salah satu energi utama dan memiliki peranan penting dalam kehidupan. Minyak bumi mengandung senyawa hidrokarbon yang apabila tertumpah ke lingkungan akan mengakibatkan pencemaran lingkungan yang cukup serius (Komarawidjaja, 2009). Sumber pencemaran oleh hidrokarbon tersebut berasal dari produk minyak bumi salah satunya oli (minyak pelumas). Oli biasanya digunakan pada perbengkelan otomotif sebagai bahan pelumas pada mesin kendaraan. Sejauh ini, oli yang telah digunakan pada perbengkelan otomotif kurang dikelola dengan baik sehingga menjadi limbah yang dapat menimbulkan pencemaran lingkungan seperti pencemaran tanah (Surtikanti dan Surakusumah, 2004). Menurut Pitrandjalisari (2009), oli yang telah digunakan termasuk dalam kategori limbah bahan berbahaya dan beracun (B3)

yang memiliki potensi untuk menimbulkan pencemaran dan kerusakan lingkungan.

Oli sebagai produk minyak bumi terdapat dalam bagian minyak mentah dan mengandung senyawa hidrokarbon (Arijanto dan Setyana, 2007). Oli yang tercecceer atau tumpah ke tanah akan mengakibatkan matinya mikroba-mikroba yang berada di dalam tanah, hal ini dikarenakan senyawa hidrokarbon yang terdapat pada oli bersifat toksik dan karsinogenik (Zam, 2011), serta polutan yang dapat merubah struktur dan fungsi tanah (Surtikanti dan Surakusumah, 2004). Tanah yang tercemar oli biasanya berwarna hitam dan berminyak dengan bau oli yang menyengat.

Pencemaran akibat hidrokarbon minyak bumi telah menimbulkan masalah lingkungan yang cukup serius dan perlu pengelolaan yang tepat agar tidak terjadi kerusakan lingkungan yang berkelanjutan. Metode pengelolaan lingkungan tercemar hidrokarbon minyak bumi yang banyak

digunakan yaitu secara kimia dan fisika. Metode ini sangat efektif untuk tujuan jangka pendek, namun membutuhkan banyak biaya dan menimbulkan dampak negatif pada lingkungan dan ekosistem (Pertiwi *et al.*, 2011). Oleh karena itu, diperlukan metode pengelolaan lingkungan yang ramah lingkungan yaitu secara biologis salah satunya dengan memanfaatkan mikroba seperti bakteri.

Karakteristik bakteri ini adalah memiliki kemampuan dalam memanfaatkan senyawa hidrokarbon sebagai sumber karbon dan energi yang diperlukan bagi pertumbuhannya (Mujab, 2011), sehingga mampu bertahan pada lingkungan yang tercemar minyak bumi (Yojana, 1995). Proses pendegradasian dengan menggunakan bantuan mikroba relatif lebih mudah, biaya yang murah dan ramah lingkungan (Hafiluddin, 2011).

Isolat bakteri yang memiliki kemampuan dalam mendegradasi hidrokarbon telah ditemukan sebelumnya sebanyak 9 isolat yang berasal dari tempat pembuangan oli dan bahan bakar minyak di Cilegon, Banten (Hajar, 2012). Sinaga (2013) melaporkan bahwa *Bacillus* sp. ICBB 7859 dan ICBB 9461 mampu menurunkan *Total Petroleum Hydrocarbon* (TPH) oli bekas sampai di bawah 1% selama enam minggu, dan *Bacillus* sp. ICBB 5071 mampu menurunkan TPH oli bekas sampai di bawah 1% selama lima minggu.

Beberapa *author* telah melaporkan tentang pengisolasian bakteri yang digunakan dalam mendegradasi hidrokarbon pada lingkungan yang tercemar minyak bumi seperti perairan dan tanah di sekitar area sumur minyak bumi. Namun, bakteri ini juga dapat diisolasi pada tanah tercemar di lokasi perbengkelan otomotif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui proporsi keberadaan bakteri yang berpotensi mendegradasi hidrokarbon dalam tanah tercemar di lokasi perbengkelan otomotif dan mengetahui karakter morfologi isolat-isolat.

Metode Penelitian

Penelitian dilakukan menggunakan metode survei dengan beberapa tahapan yaitu isolasi dan karakterisasi bakteri pendegradasi hidrokarbon pada oli di tanah tercemar lokasi perbengkelan otomotif dan data yang didapatkan dianalisis secara deskriptif.

Pengambilan Sampel

Sampel diambil secara *purposive sampling* dari tanah yang tercemar oli pada salah satu perbengkelan otomotif di By Pass, Padang, Sumatera Barat. Lokasi pengambilan sampel telah tercemar oli sekitar 15 tahun. Sampel tanah yang diambil berada disekitar vegetasi dengan kriteria, diantaranya berminyak, hitam dan berbau oli yang menyengat.

Isolasi Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon

Diambil 10 g sampel tanah tercemar oli, dilakukan pengenceran bertingkat sampai 10^{-7} . Setelah itu, diambil 1 ml hasil pengenceran dengan menggunakan mikropipet untuk diinokulasikan secara *pour plate* (Cappuccino dan Sherman, 2005) pada medium NA yang dimodifikasi dengan penambahan oli, tween, *neutral red*, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 72 jam. Diamati keberadaan bakteri yang membentuk daerah halo dan yang tidak membentuk daerah halo.

Karakterisasi Isolat Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon

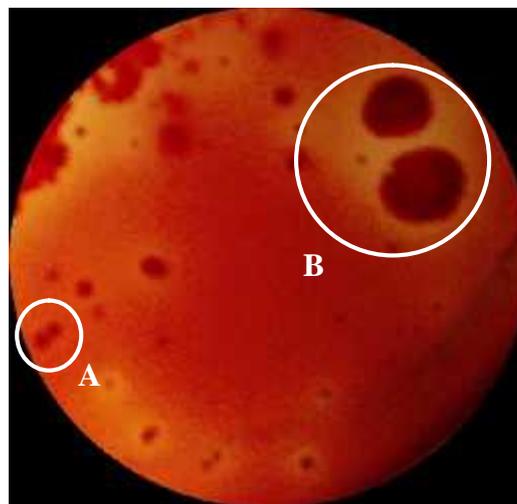
Karakterisasi makroskopis dilakukan dengan mengamati bentuk, warna, elevasi dan tepian koloni bakteri, sedangkan karakterisasi mikroskopis dilakukan dengan uji pewarnaan Gram, uji motilitas dan uji katalase.

Hasil dan Pembahasan

Proporsi Keberadaan Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon Di Tanah Tercemar Lokasi Perbengkelan Otomotif
Bakteri yang ditemukan pada tanah tercemar oli di lokasi perbengkelan dapat dilihat dari kemampuan koloni bakteri tumbuh baik pada medium yang

dimodifikasi (Gambar 1). Bakteri ini bercirikan dapat membentuk daerah halo dan tidak dapat membentuk daerah halo. Koloni bakteri yang membentuk daerah halo merupakan koloni bakteri yang diduga mampu mendegradasi hidrokarbon pada oli. Hamdiyah (2000) menyatakan, semakin besar daerah halo yang dihasilkan oleh suatu kultur, maka semakin besar pula dugaan bahwa kultur tersebut adalah mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon. Daerah halo ini terbentuk karena adanya indikator *neutral red* yang mampu mendeteksi keberadaan asam lemak yang mengakibatkan terjadinya penyerapan indikator di sekeliling koloni sehingga terbentuk daerah halo dan warna koloni

menjadi merah. Koloni bakteri yang tidak membentuk daerah halo merupakan koloni bakteri yang toleran pada lingkungan yang tercemar. Koloni bakteri ini berkemungkinan bisa mendegradasi hidrokarbon pada oli, akan tetapi bakteri belum bisa mengekspresikan salah satu enzim yang dibutuhkan dalam proses degradasi. Yojana (1995) menyatakan, biodegradasi oleh bakteri dapat terjadi karena adanya aktivitas enzim yang dimiliki oleh masing-masing bakteri. Melalui proses enzimatik, bakteri dapat melakukan transformasi substansi hidrokarbon menjadi bentuk yang lebih sederhana yang dapat diserap oleh bakteri sebagai nutrisi bagi pertumbuhannya.



Gambar 1. Keberadaan Bakteri-Bakteri yang Ditemukan dalam Tanah Tercemar Menggunakan Medium NA yang dimodifikasi, setelah inkubasi 72 jam pada suhu 37°C; A. Bakteri yang tidak membentuk daerah halo, B. Bakteri yang membentuk daerah halo

Proporsi keberadaan bakteri yang membentuk daerah halo dan bakteri yang tidak membentuk daerah halo disajikan pada Tabel 1. Proporsi keberadaan bakteri yang memiliki daerah halo sebesar 39,02% yang mengindikasikan bahwa pada tanah

tercemar di lokasi perbengkelan otomotif diduga terdapat bakteri pendegradasi hidrokarbon pada oli, sedangkan proporsi keberadaan bakteri tidak memiliki daerah halo sebesar 60,98%.

Tabel 1. Proporsi Keberadaan Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon di Tanah Tercemar Lokasi Perbengkelan Otomotif

Koloni Bakteri	Jumlah Bakteri (...x10 ⁵ cfu/g)	Proporsi (%)
Membentuk daerah halo	1,6	39,02
Tidak membentuk daerah halo	2,5	60,98
Total	4,1	100

Bakteri pendegradasi hidrokarbon terdistribusi secara luas dilaut, perairan tawar dan tanah sebagai tempat hidupnya (Sugoro, 2002). Walker dan Colwell (1976) menyatakan, jumlah bakteri pemecah hidrokarbon mempunyai korelasi positif dengan kandungan hidrokarbon dari lingkungan hidupnya. Bakteri pemecah minyak mengalami pertumbuhan yang sangat cepat dan jumlah sel banyak pada tanah terkontaminasi minyak daripada tanah yang tidak terkontaminasi minyak (Yoswaty, 2002).

Enam belas koloni bakteri yang berindikasi pendegradasi hidrokarbon pada oli memiliki 5 perbedaan makroskopis, artinya ada 5 isolat bakteri yang berbeda yaitu isolat BTTO₁, BTTO₂, BTTO₃, BTTO₄ dan BTTO₅. Kelima isolat ini akan dilakukan karakterisasi.

Karakter Isolat Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon di Tanah Tercemar Lokasi Perbengkelan Otomotif

Karakter dari isolat bakteri pendegradasi hidrokarbon di tanah tercemar lokasi perbengkelan otomotif disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Karakter Isolat-Isolat Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon di Tanah Tercemar Lokasi Perbengkelan Otomotif Secara Makroskopis dan Mikroskopis

Karakter	Isolat				
	BTTO ₁	BTTO ₂	BTTO ₃	BTTO ₄	BTTO ₅
Makroskopis					
Warna koloni	Putih Kekuningan	Putih Kekuningan	Putih Kekuningan	Putih Kekuningan	Putih Kekuningan
Bentuk koloni	<i>Irregular</i>	<i>Circular</i>	<i>Irregular</i>	<i>Circular</i>	<i>Circular</i>
Elevasi koloni	<i>Raised</i>	<i>Raised</i>	<i>Flat</i>	<i>Flat</i>	<i>Raised</i>
Tepian koloni	<i>Undulate</i>	<i>Entire</i>	<i>Lobate</i>	<i>Entire</i>	<i>Entire</i>
Mikroskopis					
Bentuk sel	<i>Basil</i>	<i>Basil</i>	<i>Basil</i>	<i>Basil</i>	<i>Basil</i>
Pewarnaan Gram	Gram negatif	Gram negatif	Gram negatif	Gram negatif	Gram negatif
Motilitas	Motil	Motil	Motil	Motil	Motil
Uji Katalase	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif

Tabel 2 menunjukkan bahwa kelima isolat memiliki karakter yang berbeda dalam hal bentuk koloni, elevasi koloni dan tepian koloni, akan tetapi kelima isolat memiliki karakter yang sama dalam hal warna koloni, bentuk sel basil, Gram negatif, bersifat motil dan katalase positif. Motilitas isolat bakteri pendegradasi hidrokarbon pada oli ditandai dengan adanya pertumbuhan bakteri yang menyebar pada medium NA semi solid. Uji katalase positif isolat-isolat bakteri ditandai dengan terdapatnya gelembung udara setelah ditetaskan H₂O₂ 3%. Adanya gelembung udara tersebut mengindikasikan adanya reaksi penguraian hidrogen peroksida oleh enzim katalase

yang dihasilkan oleh mikroorganisme (Cappuccino dan Sherman, 2005).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan tentang isolasi bakteri pendegradasi hidrokarbon di tanah tercemar lokasi perbengkelan otomotif, maka didapatkan kesimpulan sebagai berikut:

1. Diperoleh 39,02% ($1,6 \times 10^5$ cfu/g) bakteri yang berpotensi sebagai pendegradasi hidrokarbon pada oli dan 60,98% ($2,5 \times 10^5$ cfu/g) bakteri yang tidak berpotensi.

2. Lima isolat (BTTO₁, BTTO₂, BTTO₃, BTTO₄ dan BTTO₅) memiliki karakter yaitu berbentuk basil, Gram negatif, motil dan katalase positif.

Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada Dr. Fuji Astuti Febria, Dr. Anthoni Agustien dan Dr. Efrizal yang telah memberikan masukan, saran dan kritikan selama penelitian berlangsung dan dalam proses penulisan artikel ini.

Daftar Pustaka

- Arijanto dan B. Setyana. 2007. Pengujian Campuran Terbaik Bahan Bakar Alkohol-Bensin Ditinjau dari Aspek Kandungan Material Pelumas Pada Sepeda Motor 4 Langkah. *Jurnal Rotasi* 9(3): 40-42.
- Cappucino, J. G dan N. Sherman. 2005. *Microbiology a Laboratory Manual 7th Ed.* Pearson Education, Inc. Publishing as Benjamin Cummings. San Francisco. CA.
- E Pertiwi, S., H. Widjajanti, B. Yudono, dan H. Wahyudi. 2011. Pemanfaatan Rumput *Fimbrisylis* sp. dalam Proses Bioremediasi Tanah pada Berbagai Konsentrasi Limbah Minyak Bumi. *Jurnal Penelitian Sains* 14(1): 57-61.
- Hafiluddin. 2011. Bioremediasi Tanah Tercemar Minyak Dengan Teknik Bioaugmentasi dan Biostimulasi. *Embryo* 8(1): 47-52.
- Hajar, D. 2012. Isolasi, Identifikasi dan Analisis Kemampuan Degradasi Hidrokarbon Bakteri Tanah Sampel B, Cilegon, Banten. [Skripsi]. Depok. Universitas Indonesia.
- Hamdiyah, S. 2000. Isolasi dan Identifikasi Morfologi Bakteri Pendegradasi Minyak Bumi serta Efektifitasnya dalam Proses Bioremediasi. [Skripsi]. Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- Komarawidjaja, W. 2009. Karakteristik dan Pertumbuhan Konsorsium Mikroba Lokal Dalam Media Mengandung Minyak Bumi. *Jurnal Teknik Lingkungan*. 10(1): 114-119.
- Mujab, A. S. 2011. Penggunaan Biokompos dalam Bioremediasi Lahan Tercemar Limbah Lumpur Minyak Bumi. [Skripsi]. Jakarta. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Pitrandjalisari, V. 2009. Analisis Kelayakan Investasi Penggunaan Teknologi *Crude Oil System* di Departemen *Power Plant* PT Newmont Nusa Tenggara. *Jurnal Teknik Industri* 10(2): 109-113.
- Sinaga, A. P. 2013. Perombakan Hidrokarbon dalam Tanah Terkontaminasi Minyak Berat, Minyak Ringan dan Oli Bekas oleh *Bacillus* sp. [Skripsi]. Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- Sugoro, I. 2002. Bioremediasi Sludge Limbah Minyak Bumi Lahan Tercemar dengan Teknik Land Farming dalam Skala Laboratorium. [Tesis]. Bandung. Institut Teknologi Bandung.
- Surtikanti, H. dan W. Surakusumah. 2004. Studi Pendahuluan tentang Peranan Tanaman dalam Proses Bioremediasi Oli Bekas dalam Tanah Tercemar. *Jurnal Ilmiah Biologi Ekologi dan Biodiversitas Tropika* 2(1): 11-14.
- Yojana, R. N. 1995. Aktivitas Bakteri Hasil Isolasi dari Tumpahan Minyak di Pelabuhan Dumai dalam Biodegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi. [Skripsi]. Padang. Universitas Andalas.
- Yoswaty, D. 2002. Pemanfaatan Bakteri Pemecah Minyak Dalam Proses Bioremediasi. [Tesis]. Jakarta. Universitas Indonesia.
- Walker, J. D. dan Colwell. R. R. 1976. Enumeration of Petroleum-Degrading Microorganisms. *Applied And Environmental Microbiology* 31(2): 198-207.
- Zam, S. I. 2011. Bioremediasi Tanah yang Tercemar Limbah Pengilangan Minyak Bumi Secara *In Vitro* pada Konsentrasi pH Berbeda. *Jurnal Agroteknologi*, 1(2): 1-8.