

ISOLASI BAKTERI INDEGEN MINYAK BUMI DARI GAS BOOT DI PETAPAN RIAU

Irda sayuti¹⁾ Yusni Ikhwan Siregar²⁾ Bantal Amin³⁾ Anthoni Agustien⁴⁾

¹⁾Dosen Pendidikan Biologi FKIP Universitas Riau

¹⁾Mahasiswa Program Doktor Ilmu lingkungan Universitas Riau

²⁾Dosen Program Studi Ilmu lingkungan Universitas Riau

³⁾Dosen Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau

⁴⁾Dosen Biologi Universitas Andalas

Irdayayuti63@gmail.com

ABSTRAK

Minyak bumi merupakan sumber energi utama yang digunakan baik pada rumah tangga, industri maupun transportasi. Aktivitas industri yang meliputi pengeboran, pengilangan, proses produksi dan transportasi umumnya menghasilkan minyak baik di tanah maupun perairan yang dapat mencemari lingkungan. Bakteri mempunyai keanekaragaman yang sangat tinggi secara makrobiologi dan mikrobiologi. Bakteri indegen mampu mendegradasi senyawa hidrokarbon dengan memanfaatkan senyawa tersebut sebagai sumber karbon dan energi yang diperlukan bagi pertumbuhannya. Penelitian bakteri indigen pendegradasi minyak bumi ini dilakukan secara bertahap yaitu isolasi, pemurnian, karakterisasi dan identifikasi bakteri isolat bakteri. Sampel berupa fluida yang terdiri air dan minyak bumi yang diambil dari lokasi *gas boot* Petapahan Riau. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri indegen yang terdapat di area *gas boot* Petapahan Riau. Penelitian ini telah dilakukan pada bulan Maret-April 2016 di Laboratorium Riset Mikrobiologi, Jurusan Biologi, FMIPA Unand Padang. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode eksperimen, selanjutnya data yang didapatkan disajikan secara deskriptif. Berdasarkan identifikasi dan uji biokimia diperoleh bakteri indegen dengan spesies *Klebsiella sp* dan *Klabsiella Pneumoniae*.

Kata kunci : Bakteri, Indegen, Gas Boot Petapahan Riau

ABSTRACT

*Crude oil is one of primary energy source in household, industry, and transportation. Industrial activities such as drilling, oil pressing, producing and transportation processes are generally produce crude oil on soil and water that could contaminate the environment. Bacteria have a very high diversity in morphology. Indigent bacteria has the ability to degrade hydrocarbon compound by using the compound as carbon and energy source for its growth. Research in indigent bacteria the degrader of crude oil waste is performed in several phase which were isolating, purifying, characterizing, and identifying isolate bacteria. sample is a fluida which is water and crude oil which taken from gas boot's area Petapahan Riau. This research aims to identify the indigent bacteria existence in gas boot area of Petapahan Riau. This research is conducted from March to April 2016 in Microbiologist Laboratory, FMIPA Unand using experiment method, and the result datas are presented in descriptive methods. The result of this research is the isolate bacteria found in gas boot area of PT.CPI Petapahan Riau is species *Klebsiella sp* dan *Klabsiella Pneumoniae*.*

Key words: Bacteria, Indigent, Gas Boot Petapahan Riau

PENDAHULUAN

Pengolahan lingkungan alam atau pengolahan sumber daya alam seperti pengolahan minyak bumi memiliki berbagai dampak dalam kehidupan manusia. Dampak tersebut dapat bernilai positif maupun negatif. Dampak positif akibat pengolahan minyak bumi diantaranya adalah terpenuhinya kebutuhan sumber bahan bakar dan dapat meningkatkan devisa Negara, dan dampak negatif yang ditimbulkan diantaranya adalah berupa limbah (residu) dengan komposisi berupa aspal, lilin, logam berat, lumpur bercampur minyak sisa pengilangan (*oil sludge*) dan hidrokarbon (Anonimus, 1994), sosial (kesehatan masyarakat), dan ekonomi (depleksi sumber daya alam) yang berkaitan dengan perekonomian Negara.

Sebagai sumber energi, minyak dan gas bumi memiliki banyak manfaat, cukup efisien dan ekonomis serta keberadaannya cukup melimpah, tetapi bila tumpah atau terbuang ke lingkungan, minyak tersebut akan menjadi cemaran yang dapat menjadi polutan yang berbahaya. Menurut Chaan (2013), minyak bumi termasuk limbah bahan berbahaya dan beracun. Pencemaran minyak bumi dapat berasal dari tumpahan dan cecceran minyak bumi selama kegiatan pengeboran, produksi, pengilangan dan transportasi minyak bumi, sehingga mengakibatkan gangguan pada keseimbangan ekosistem air, tanah, maupun laut. Salah satu kontaminan yang sulit diurai adalah senyawa hidrokarbon yang berasal dari minyak bumi atau lumpur minyak bumi. Senyawa ini dapat bersifat toksik apabila terakumulasi dalam sel.

Pada umumnya limbah minyak bumi diolah secara fisika dengan penyaringan, penyerapan, pembakaran atau secara kimia dengan menggunakan pengemulsi. Cara-cara ini memang dapat menghilangkan limbah minyak bumi dengan cepat, akan tetapi biayanya mahal dan tidak ramah lingkungan. Sebagai contoh, pembakaran dapat menghancurkan hidrokarbon dengan cepat, tetapi pada saat bersamaan menyebabkan polusi udara dan meninggalkan sisa pembakaran yang memerlukan penanganan lebih lanjut. Sementara itu, penggunaan bahan kimia sintesis selain lebih mahal juga dapat menimbulkan resiko pencemaran baru, sehingga diperlukan suatu cara pengolahan limbah minyak bumi yang lebih ekonomis dan lebih ramah lingkungan (Clark, 1986).

Salah satu cara untuk pengelolaan dan pemanfaatan limbah dilakukan dengan menggunakan agen biologi yang disebut bioremediasi. Bioremediasi merupakan suatu proses pemulihan (remediasi) lahan yang tercemar limbah organik maupun limbah anorganik dengan memanfaatkan organisme. Pengelolaan dengan menggunakan organisme merupakan alternatif penanggulangan limbah minyak bumi yang murah, efektif, ramah lingkungan dan menyebabkan terjadinya degradasi limbah yang menghasilkan senyawa akhir yang stabil dan tidak beracun, namun metode ini membutuhkan waktu yang lebih lama dibandingkan dengan cara fisika atau kimia (Atlas dan Bartha dalam Munawar dan Elfita, 2015).

Penanggulangan limbah minyak bumi secara biologi dapat dilakukan dengan melibatkan mikroorganisme. Mikroorganisme yang sering dimanfaatkan dalam pendegradasian limbah minyak bumi adalah jamur, ragi, dan bakteri (Kandarwati *et al.*, 1994; Yuliar 1995). Mikroorganisme pendegradasi minyak bumi telah banyak dieksplorasi untuk mengatasi lingkungan yang tercemar limbah minyak bumi.

Isolat yang biasanya mendominasi di lingkungan tersebut terdiri atas beberapa genera, yaitu *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Acinetobacter*, *Nocardia*, *Achromobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium* dan *Pseudomonas* (Hamdiyah, 2000). Menurut Ghazali *et al.*, (dalam Hajar 2000), bakteri merupakan mikroorganisme yang umum digunakan dalam biodegradasi hidrokarbon. Bakteri dapat mendegradasi senyawa hidrokarbon dan menggunakan senyawa tersebut sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan. Bakteri yang memiliki kemampuan

mendegradasi senyawa hidrokarbon untuk keperluan metabolisme dan perkembangbiakannya disebut kelompok bakteri hidrokarbonoklastik (Nugroho, 2006). Pemanfaatan bakteri hidrokarbonoklastik yang diisolasi langsung dari habitatnya (bakteri *indigenous*) sebagai agen pendegradasi hidrokarbon dapat mempersingkat waktu bioremediasi.

Mikroorganisme mempunyai fungsi yang sangat penting dalam suatu ekosistem, terutama dengan adanya komponen-komponen yang tidak bisa dicerna, ataupun yang sulit diuraikan seperti minyak mentah, sehingga perlu didapatkan isolat bakteri pendegradasi minyak yang potensial dan dapat dimanfaatkan dalam penanggulangan minyak buangan secara efektif dan ekonomis. Pemanfaatan mikroorganisme yang menguntungkan merupakan sebuah jawaban untuk memperoleh kepraktisan dan kemudahan dalam mengetahui mikroba yang suka hidup pada tumpahan minyak bumi (Hamdiyah, 2000).

Mikroorganisme memanfaatkan bahan organik baik dalam bentuk limbah maupun nutrient pendukung lainnya untuk dijadikan sumber karbon atau energi. Keanekaragaman jenis mikroba memungkinkan untuk menguraikan ribuan jenis senyawa organik yang berbeda-beda. Setiap mikroorganisme melakukan reaksi oksidasi dan reduksi dengan mekanisme yang spesifik.

Potensi kemampuan bakteri hidrokarbonoklastik (pendegradasi hidrokarbon) yang diisolasi dari korsosium bakteri yang berasal dari limbah minyak berat dan limbah minyak ringan perlu dipelajari melalui serangkaian penelitian, sehingga dapat digunakan sebagai agen bioremediasi untuk mengatasi pencemaran limbah minyak berat dan limbah minyak ringan pada lingkungan sekitarnya. Untuk itu perlu dilakukan studi keanekaragaman dan potensi bakteri hidrokarbonoklastik dalam proses bioremediasi limbah minyak bumi menggunakan kultur tunggal bakteri dan kultur campuran bakteri indigen untuk menanggulangi pencemaran lingkungan oleh limbah minyak bumi.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini telah dilaksanakan pada Bulan Maret-April 2016 di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Andalas, Laboratorium Bioteknologi FMIPA Universitas Andalas, dan Laboratorium Genetika FMIPA Universitas Andalas. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen, selanjutnya data yang didapatkan disajikan secara deskriptif yaitu dengan membuat gambaran secara sistematis dan akurat mengenai fakta-fakta, sifat-sifat dari fenomena yang diselidiki (Nazir, 1988).

Isolasi bakteri indigen petrofilik dilakukan terhadap sampel berupa fluida (minyak dan air) yang diambil dari areal *gas boot*.

a. Pengambilan sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah fluida minyak bumi yang di ambil dari *gas boot* GS Chevron Petapahan Riau. Sampel diambil menggunakan botol steril sebanyak 500 ml.

b. Pengayaan bakteri indigen

Pengayaan bakteri indigen minyak bumi dari *gas boot* dilakukan menggunakan medium selektif secara asetik, medium selektif dibuat dari "*Stone Mineral Salt Solution*" (SMSS), di ukur pada pH 6,5.

Optimasi sumber karbon dilakukan pada erlenmeyer 250 ml yang berisi 150 ml medium SMSS cair, pada setiap erlenmeyer ditambahkan fluida (minyak bumi dan air) dari *gas boot* selanjutnya di inkubasi pada *rotary shaker incubator* 120 rpm, pada suhu ruang selama 7 x 24 jam.

c. Isolasi bakteri indegen minyak bumi dari *gass boot* di Petapahan Riau

Pengisolasian terhadap bakteri indegen minyak bumi dan air dari *gass boot* di Petapahan Riau dilakukan melalui proses pengenceran bertingkat sampai 10^{-6} secara aseptik, hasil pengenceran sampel ditanam pada medium Nutrien Agar (NA) menurut modifikasi dari Fardiyas, 1989.

Selanjutnya pengisolasian bakteri indegen dilakukan dengan metode Pour Plate untuk menumbuhkan bakteri yang terdapat pada *gass boot*, lalu diinkubasi selama 2x24 jam (Capucino, J.B., and Sherman, N. 2005).

d. Karakterisasi isolat bakteri indegen minyak bumi di *gass boot* di Petapahan Riau

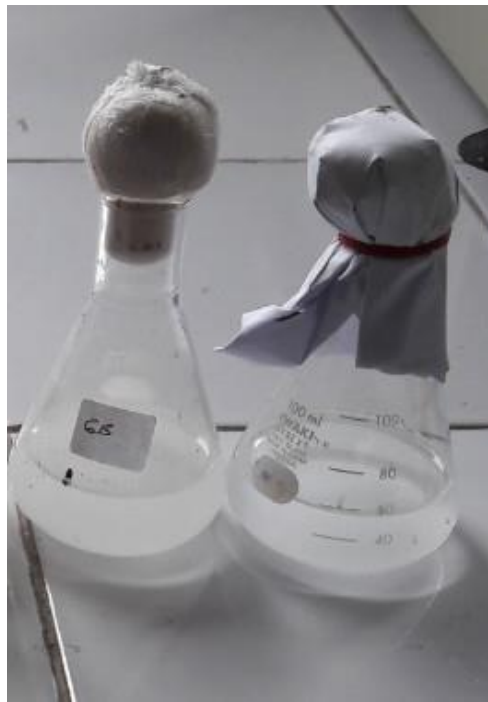
Karakterisasi isolat dilakukan secara morfologi meliputi makroskopis koloni dengan mengamati bentuk, warna, elevasi dan tepi koloni bakteri. Sedangkan karakter mikroskopis sel bakteri dilakukan dengan pewarnaan gram dan motilitas karakter secara biokimia. Dilakukan uji biokimia TSIA Simon Sitrat dan Simon Solid (Capucino, J.B., and Sherman, N. 2005).



Gambar 1. Lokasi Pengambilan Sampel di Area *Gass Boot* Petapahan Riau

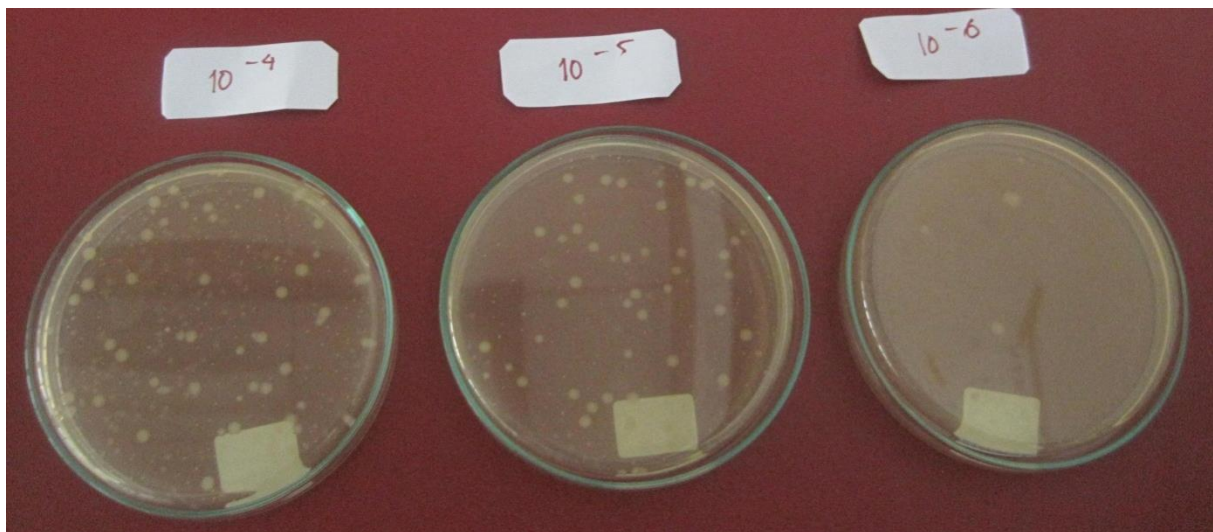
HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan karakterisasi bakteri indegen minyak bumi di *gass boot* di Petapahan Riau Berdasarkan pengamatan makroskopis isolat bakteri indegen minyak bumi dengan menggunakan medium SMSS cair didapati warna media menjadi keruh ini berarti ada pertumbuhan bakteri indegen yang terdapat pada gambar 2.



Gambar 2. Keberadaan Bakteri Hasil Isolat dari Medium SMSS

Pada tahap isolasi bakteri indegen di Gass Boot Petapahan dengan menggunakan medium Nutrient agar ditemukan sejumlah isolat bakteri seperti pada gambar.



Gambar 2. Keberadaan Bakteri Hasil Isolat dari Medium Natrium Agar

Pada gambar 1 di atas dapat dilihat banyaknya bakteri yang tumbuh didalam medium agar. Hasil isolat bakteri yang didapatkan, dilakukan pemurnian bakteri dan hanya diperoleh 1 isolat bakteri. Isolat yang diperoleh dari kultur media agar selanjutnya diidentifikasi dengan pewarnaan gram. Isolat yang berumur 24 jam diambil dari cawan petri dengan menggunakan jarum ose kemudian diletakkan pada gelas objek, difiksasi di atas bunsen. Preparat ditetesi dengan larutan *crystal violet*, didiamkan selama 60 detik dan dicuci dengan air mengalir dan dikeringanginkan. Selanjutnya preparat ditetesi larutan *iodine* dan didiamkan selama 2 menit, dicuci dengan air mengalir dan dikeringanginkan. Preparat ditetesi dengan alkohol 96% sampai warna ungu hilang. Preparat ditetesi dengan *safranin* dan didiamkan selama 30 detik,

dicuci dengan air mengalir dan didiamkan. Kemudian preparat diamati dengan menggunakan mikroskop, uji gram positif jika sel berwarna ungu dan negatif jika sel berwarna merah (Suriawiria, 2005).

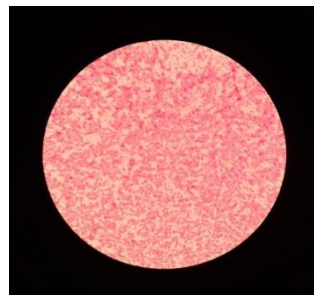
Identifikasi bakteri meliputi morfologi koloni, bentuk sel bakteri, gram bakteri dan uji biokimia dengan menggunakan media *Triple Sugar Iron Agar*(TSIA), *Simon Citrare Agar* (SCA), dan *Sulphite Indole Motility* (SIM).

Pengamatan makroskopis dari bakteri indigen minyak bumi, dilihat dari jumlah koloni, warna koloni, bentuk koloni, elevasi dan margin, sedangkan untuk pengamatan mikroskopis dari sel bakteri dilihat dari pewarnaan gram bakteri. Hasil karakteristik dan identifikasi bakteri disajikan dalam tabel 1.

Tabel 1. Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis Bakteri Indegen Menggunakan Medium Agar

| Karakteristik | 1 x 24 | 2 x 24 | 3 x 24 | 4 X 24 | 5 X 24 |
|----------------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|---------------------|
| J u m l a h | 5×10^{-6} | 9×10^{-6} | 20×10^{-6} | 6×10^{-6} | 12×10^{-6} |
| Warna koloni | K r e m | K r e m | K r e m | K r e m | K r e m |
| Bentuk Koloni | B u l a t | B u l a t | B u l a t | B u l a t | B u l a t |
| E l e v a s i | C e m b u n g | C e m b u n g | C e m b u n g | C e m b u n g | C e m b u n g |
| M a r g i n | R a t a | R a t a | R a t a | R a t a | R a t a |
| Pewarnaan Gram | N e g a t i f | N e g a t i f | N e g a t i f | N e g a t i f | N e g a t i f |

Tabel 1 menunjukkan hasil makroskopis dan mikroskopis dari 1 isolat bakteri indegen yang hidup di minyak bumi dengan warna koloni krem, bentuk koloni bulat, elevasi cembung, margin rata, dan hasil dari pewarnaan gram adalah negatif yang dibuktikan dengan preparat yang di amati berwarna merah seperti pada gambar 2.



Gambar 2. Hasil Pewarnaan Gram Pada Isolat Bakteri

Dilakukan identifikasi menggunakan uji bioimia dengan menggunakan media *Triple Sugar Iron Agar*(TSIA), *Simon Citrare Agar* (SCA), dan *Sulphite Indole Motility* (SIM) dengan hasil sebagai berikut:

Tabel 2. Hasil Uji Biokimia Bakteri Indegen

| KODE SAMPEL | T | S | I | A | S | C | SULFUR | INDOL | MOTIL | NAMA BAKTERI |
|-------------|--------------|----------------------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|------------------------------|
| G B 1 | A/A, Gas (+) | H ₂ S (-) | (+) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | <i>Klebsiella Sp</i> |
| G B 2 | K/A, Gas (-) | H ₂ S (-) | (+) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | (-) | <i>Klebsiella Pneumoniae</i> |

Bakteri *Klebsiellaini* memiliki karakteristik koloni berbentuk bulat dengan tepian rata, koloni berwarna putih dengan permukaan rata dan tipis, sel bakteri berbentuk Gram negatif, bersifat non-motil dan dapat tumbuh baik pada media SMSS. Bakteri ini satu familia dengan

bakteri *Enterobacter*. Bedanya bakteri jenis ini menunjukkan reaksi kuat dalam pembentukan gas dengan terbentuknya banyak gelembung gas dari proses metabolismenya. Klasifikasi bakteri *Klebsiella* berdasarkan buku identifikasi bakteri *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Seventh Edition* (Robert S. Breed *et al*, 1957) adalah Divison Schizophyta, Classis Schizomycetes, Ordo Eubacteriales, Familia Enterobacteriaceae, Genus *Klebsiella*. *Klebsiella* menunjukkan kemampuannya dalam memfermentasikan laktosa dan sukrosa pada media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA). Hal ini ditunjukkan dengan perubahan warna pada dasar dan lereng media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA). *Klebsiella* juga mampu menghasilkan gas dalam metabolismenya, tidak menghasilkan gas H₂S karena tidak terlihat pembentukan warna hitam pada media TSIA. *Klebsiella* menggunakan sitrat sebagai salah satu sumber karbon dalam metabolismenya ditunjukkan dengan reaksi positif perubahan warna pada media *Simon Citrate Agar* (SCA) dari warna hijau menjadi biru. Nur Hidayat *dkk* (2006) menambahkan bahwa selain menggunakan sitrat sebagai salah satu sumber karbon bakteri ini juga menggunakan hidrokarbon sebagai sumber karbon dalam pembentukan energi dan pertumbuhannya. Bakteri ini bersifat non-motil, hal ini dapat dilihat dengan pertumbuhan bakteri hanya pada bekas tusukan tetapi tidak menyebar hingga ke permukaan media *Sulphite Indole Motility* (SIM).

Bakteri *Klebsiella* diketahui memiliki kemampuan hidup pada kondisi lingkungan yang tercemar hidrokarbon minyak bumi dan mampu mendegradasikan hidrokarbon minyak bumi (Feliatra, 2001). Penelitian lain yang telah mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri *Klebsiella* diantaranya adalah penelitian Willy Fandri (2006) pada instalasi pengolahan limbah cair industri kelapa sawit diketahui bahwa *Klebsiella* merupakan bakteri kelompok lipolitik yang memiliki kemampuan dalam menghidrolisis lipid. Selain dikenal sebagai bakteri pendegradasi limbah minyak bumi dan bakteri lipolitik, Dito Chan (2009) menambahkan bahwa bakteri *Klebsiella* diketahui dapat menimbulkan berbagai penyakit terutama pada saluran pernapasan manusia dan dapat tumbuh pada berbagai habitat. *Klebsiella* memiliki kapsul sehingga koloninya berlendir.

KESIMPULAN

Isolat bakteri yang ditemukan pada areal *Gass Boot* Petapahan adalah genus *Klebsiella*, dengan spesies yang didapat *Klebsiella Sp* dan *Klebsiella Klebsiella Pneumoniae*. Perlu dilakukan penelitian uji lanjut mengenai kemampuan masing-masing isolat bakteri dalam mendegradasi minyak bumi sehingga dapat diperoleh isolat yang berperan dalam biodegradasi limbah minyak bumi.

DAFTAR PUSTAKA

- Andrea Gwartney. 2012. *Klebsiella pneumoniae*. (online). <http://www.microbeworld.org/component/jlibrary/?view=article&id=9707>. (diakses 24 Maret 2016).
- Capucino, J.B., and Sherman, N. 2005. *Microbiology: A Laboratory Manual*. Addison Wesley Publ. Co. Massachussetts.
- Cara Wilder. 2013. *The Effect of Horizontal Gene Transfer on the Emergence of Multi-Drug Resistant Bacteria in Nosocomial Infections*. (online). <http://atccmicrobiology.blogspot.com/2013/02/the-effect-of-horizontal-gene-transfer.html>. (diakses 24 Desember 2014).
- Chaan, B. 2013. *Biodegradasi Kimia Organik*. <http://chaan-biodegradasi-senyawa-organik.html>. (Diakses 3 Juni 2013)

- Feliatra. 2001. *Buku Ajar Mikrobiologi Laut*. Pusat Penelitian Kawasan Pantai dan Perairan Universitas Riau. Pekanbaru.
- Hamdiyah, S. 2000. *Isolasi dan Identifikasi Morfologi Bakteri Pendegradasi Minyak Bumi serta Efektivitasnya dalam Proses Bioremediasi*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- M.J. Pelczar and E.C.S. Chan. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. UI Press. Jakarta.
- Munawar, Aditiawati P, Astuti DI. 2015. Sequential Isolation of Saturated Aromatic Resinic and Asphaltic Fractions Degrading Bacteria from Oil Contaminated Soil in South Sumatera. *Makara J Sci* 16 (1): 58-64.
- Nugroho, A. 2007. Dinamika Populasi Konsorsium Bakteri Hidrokarbonoklastik: Studi Kasus Biodegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi Skala Laboratorium. *Jurnal Ilmu Dasar*. 8(1): 13–23.
- Nur Hidayat, Masdiana C. Padaga dan Sri Suhartini. 2006. *Mikrobiologi Industri*. ANDI. Yogyakarta.
- Suriawiria, U. 2005. *Mikrobiologi Dasar*. Paps Sinar Sinanti. Jakarta.
- Widjajanti H, Munawar, Nofiah. 2006. Isolasi, Seleksi, dan Karakterisasi Bakteri Hidrokarbonoklastik dari Limbah Cair Kegiatan Eksplorasi Minyak Bumi. *Pengelolaan Lingkungan dan Sumberdaya Alam* 5(4): 22-23
- Yudono, B., Estuningsih, S. P., Said, M., Sabaruddin, dan Napoleon, A. 2013. Eksplorasi Bakteria Indegen Pendegradasi Limbah Minyak Bumi di Wilayah PT. Pertamina UBEP Limau Muara Enim. *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*. 2–13.