

Identifikasi Bakteri yang Berpotensi Mendegradasi Hidrokarbon dari Substrat Mangrove dengan Tekstur Berpasir, Berlumpur, dan Tanah Liat

Desy Shintya Irene ^{a*}, I Gusti Ngurah Putra Dirgayusa ^a, Ni Luh Putu Ria Puspitha ^a

^a Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Kelautan dan Perikanan, Universitas Udayana, Kabupaten Badung, Bali - Indonesia

* Penulis koresponden. Tel.: 081-237-584-321

Alamat e-mail: irenedesy3112@gmail.com

Diterima (received) 7 October 2018 ; disetujui (accepted) 3 Desember 2020; tersedia secara online (available online) 3 Desember 2020

Abstract

Hydrocarbon compounds are commonly found in petroleum and gas, plastics, paraffins, and bitumen. Although hydrocarbons are the constituent compounds of the materials used by humans, some hydrocarbon compounds have adverse effects on the environment and humans. One alternative to solve this problem is by using Mangrove substrate in Ngurah Rai Forest Park, Bali which is the habitat of several species of bacteria that interfere with degrading hydrocarbons. This study aims to identify the bacteria that interfere with hydroxon, through macroscopic observation, microscopic and biochemical tests. The results of this study showed six isolate bacteria that interfere with degrading hydrocarbon compounds. Six isolates were from the genus *Alcaligenes* of sandy mangroves, *Pseudomonas* and *Bacillus* genus from muddy mangrove soils, and two genera of bacteria from clay substrate namely *Alcaligenes* and *Bacillus*. The disturbing bacterial proposals underlying the highest hydrocarbon were found on clay with a value of 58.51% and the lowest on sandy substrates, with a discount value of 0%. The highest value on the clay substrate can cause the clay substrate to bind hydrocarbons, air, nutrients, and oxygen higher than sandy and muddy soils. The lowest value on sandy substrate can lead to low bacterial capability and it takes a long time for bacteria to degrade hydrocarbons.

Keywords: *bacteria; degradation of hydrocarbons; mangrove's soil*

Abstrak

Senyawa hidrokarbon secara umum ditemukan pada minyak bumi dan gas, plastik, parafin, dan aspal. Meskipun hidrokarbon merupakan senyawa penyusun atas bahan yang umum dimanfaatkan manusia, beberapa jenis senyawa hidrokarbon diketahui memiliki sifat karsinogenis dan neurotoksik yang berbahaya bagi lingkungan dan manusia. Salah satu alternatif penanggulangan masalah ini adalah dengan memanfaatkan substrat Mangrove di Taman Hutan Raya Ngurah Rai, Bali yang menjadi habitat beberapa spesies bakteri yang berpotensi mendegradasi hidrokarbon. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri yang berpotensi mendegradasi hidrokarbon, melalui pengamatan makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia. Hasil penelitian ini menunjukkan terdapat enam isolat bakteri yang berpotensi mendegradasi senyawa hidrokarbon. Enam isolat tersebut berasal dari genus *Alcaligenes* dari tanah mangrove berpasir, genus *Pseudomonas* dan *Bacillus* dari tanah mangrove berlumpur, dan dua genus bakteri dari substrat tanah liat yaitu *Alcaligenes* dan *Bacillus*. Proposi bakteri yang berpotensi mendegradasi hidrokarbon tertinggi ditemukan pada substrat tanah liat dengan nilai 58,51% dan terendah di substrat berpasir, dengan nilai proporsi sebesar 0%. Nilai tertinggi pada substrat tanah liat dapat disebabkan substrat tanah liat mampu mengikat sumber hidrokarbon, air, nutrisi, dan oksigen lebih tinggi dibandingkan tanah berpasir dan berlumpur. Nilai terendah pada substrat berpasir dapat disebabkan rendahnya kemampuan bakteri dan perlu waktu yang cukup lama bakteri mendegradasi hidrokarbon.

Kata Kunci: *bakteri; degradasi hidrokarbon; tanah mangrove*

1. Pendahuluan

Hidrokarbon merupakan senyawa organik yang tersusun atas unsur karbon (C) dan hidrogen (H) (Banerjee et al., 2016). Senyawa ini secara umum ditemukan pada minyak bumi dan gas, plastik, parafin, isopropil alkohol, dan aspal. Meski merupakan senyawa penyusun atas bahan – bahan yang banyak dimanfaatkan dalam kegiatan manusia, beberapa jenis senyawa hidrokarbon diketahui memiliki sifat karsinogenis dan neurotoksik yang berbahaya bagi lingkungan dan manusia (Sihag et al., 2014). Hidrokarbon yang bersifat toksik ini terutama berasal dari *aromatic hydrocarbon* berupa *benzene*, *toluene*, *ethylbenzene* dan *xylenes* (senyawa BTEX) serta *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons* (PAH) yaitu *naphthalene* (Okere, 2012).

Menurut Sihag et al. (2014), kontaminasi senyawa *aromatic hydrocarbon* dan PAH dapat mempengaruhi ekosistem laut dan manusia. Kontaminasi senyawa PAH dan *aromatic hydrocarbon* seperti *asphaltenes* dapat menyebabkan efek kronis pada organisme, memiliki sifat persisten, sangat beracun dan memiliki potensi kronis jangka panjang. Hal ini dipengaruhi oleh dosis dan paparan hidrokarbon serta kerentanan organisme. Berdasarkan adanya penggunaan hidrokarbon oleh manusia dan pengaruh negatif yang ditimbulkan melalui pemanfaatannya, maka diperlukan usaha penanggulangan hidrokarbon sebagai alternatif untuk mengatasi permasalahan yang ada.

Biodegradasi oleh mikroorganisme adalah salah satu cara yang tepat dan efektif untuk menanggulangi masalah hidrokarbon (Mbachu et al., 2014). Mikroorganisme khususnya jenis bakteri tertentu dapat hidup di lingkungan yang tercemar dengan memanfaatkan hidrokarbon sebagai sumber karbon dan metabolisme energinya (Sihag et al., 2014), serta menghasilkan biosurfaktan yang dapat membantu melepaskan senyawa hidrokarbon melalui pelarutan dan emulsifikasi.

Hutan mangrove memiliki potensi biodiversitas tinggi untuk eksplorasi bakteri pendegradasi hidrokarbon (Wirajana et al., 2013). Menurut Kurnia et al. (2006), tanah mangrove kaya bahan organik yang berperan sebagai biostimulasi untuk meningkatkan ketersediaan nutrisi, membantu aerasi di tanah dan membantu pengikatan sumber hidrokarbon di tanah sehingga menunjang proses degradasi hidrokarbon (Clarkson dan Robert,

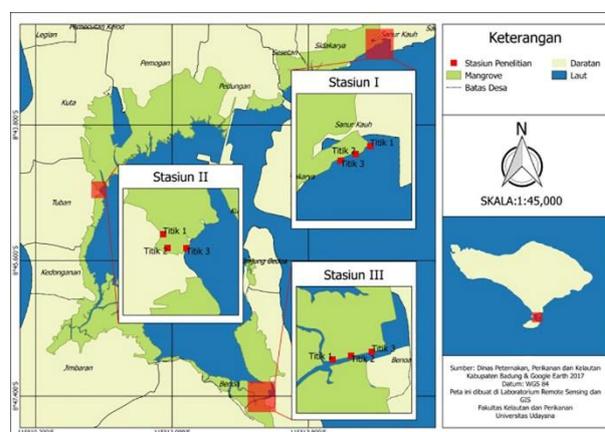
2016). Menurut Taqwa et al. (2014), terdapat hubungan antara kandungan bahan organik dan tanah. Kandungan bahan organik dalam tanah mempengaruhi porositas tanah yang menyebabkan terbentuknya tekstur tanah.

Tekstur tanah secara umum terbagi atas tiga kelompok yaitu tanah berpasir, tanah berlumpur dan tanah liat (Kurnia et al., 2006). Menurut Clarkson dan Robert (2016) tekstur tanah yang berbeda dapat menjadi faktor pembatas keberadaan bakteri pendegradasi hidrokarbon. Fenomena yang diamati melalui observasi ini menarik untuk dilakukan kajian terkait bakteri pendegradasi hidrokarbon pada tesktur tanah mangrove berpasir, berlumpur, dan tanah liat.

2. Metode Penelitian

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan selama tiga bulan, yaitu pada bulan Februari - April. Pengambilan sampel dilakukan di Taman Hutan Raya (Tahura) Ngurah Rai, Bali. Lokasi penelitian dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Peta lokasi penelitian Taman Hutan Mangrove Ngurah Rai – Bali.

Pada lokasi penelitian ditentukan tiga stasiun yang dibedakan berdasarkan tekstur substrat mangrove. Pengukuran tekstur tanah diketahui dengan metode penentuan analisis fisika tanah.. Dari hasil tersebut diperoleh stasiun 1 berada di Desa/Kelurahan Sanur Kauh yang berhadapan langsung dengan Pantai Mertasari, stasiun ini memiliki tekstur substrat mangrove berpasir. Stasiun 2 berada di Desa/Kelurahan Wanasari, stasiun ini memiliki tekstur substrat mangrove berlumpur.

Stasiun 3 berada di Desa/Kelurahan Bena memiliki tekstur substrat mangrove tanah liat. Masing – masing stasiun memiliki tiga titik. Peta lokasi penelitian dapat dilihat pada gambar 1. Isolasi bakteri dan uji biokimia isolat dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana.

2.2 Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain, autoklaf, inkubator, cawan petri steril, bunsen, jarum ose, kaca objek, tabung reaksi dan rak tabung, gelas beaker, gelas ukur, pipet tetes, kulkas, timbangan analitik, vortex, *hot plate stirrer* dan *stirre bar*, spatula *stainless*, *coolbox*, mikropipet dan tip *laminary air flow*, wadah kaca.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini berupa substrat mangrove dengan tekstur tanah berpasir (*sandy*), berlumpur/debu halus (*silty*) dan lempung/tanah liat (*clay*). Media yang digunakan berupa NA modifikasi dengan penambahan tween 80 (Yolantika et al., 2005) dan nistatin. Nistatin merupakan antijamur yang efektif membunuh jamur dan ragi namun tidak efektif pada bakteri, protozoa dan virus (Djajusman et al., 2014).

2.3 Prosedur kerja

2.3.1. Pengambilan sampel

Tanah mangrove diambil dari kawasan konservasi hutan mangrove Taman Hutan Raya (Tahura) Ngurah Rai, Denpasar-Bali. Pada setiap stasiun diambil tiga sampel, sesuai dengan titik yang telah ditentukan. Sampel berupa substrat mangrove diambil dengan skop kecil. Sampel diambil pada kedalaman 0 – 10 cm sebanyak 150 g kemudian dimasukkan dalam wadah kaca steril. Untuk mencegah kontaminasi maka wadah kaca dibungkus dengan *aluminum-foil* dan *cling wrap*, kemudian disimpan dalam *coolbox*.

2.3.2. Isolasi bakteri pendegradasi hidrokarbon

Diambil 10 g tanah mangrove, dilakukan pengenceran bertingkat sampai 10^{-4} (PPOMN, 2006). Diambil 1 ml hasil pengenceran dengan menggunakan mikropipet untuk diinokulasikan secara *pour plate* (Cappuccino, 20014) Sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 – 42 jam.

Isolat bakteri diamati melalui pembentukan zona bening yang dapat disebut dengan daerah halo.

2.3.3. Identifikasi bakteri pendegradasi hidrokarbon

Identifikasi ini dilakukan melalui pengamatan karakteristik makroskopis berupa pengamatan bentuk, tepi, elevasi, warna dan permukaan koloni. Pengamatan mikroskopis dengan pewarnaan gram serta uji biokimia berupa uji Gram, uji katalase dan uji oksidase.

2.3.4. Proporsi Keberadaan Bakteri yang Berpotensi Mendegradasi Hidrokarbon

Perhitungan proporsi keberadaan bakteri pendegradasi bertujuan untuk mengetahui seberapa besar potensi bakteri pendegradasi hidrokarbon dapat ditemukan pada masing – masing stasiun penelitian. Untuk mengetahui nilai tersebut, dilakukan perhitungan terhadap jumlah bakteri di setiap titik pada stasiun penelitian (BSN, 2015):

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n1) + (0,1 \times n2) \times (d)]} \quad (1)$$

dimana $\sum C$ adalah jumlah total koloni dari semua cawan yang dihitung (koloni); N adalah jumlah koloni per ml (cfu/ml); n1 adalah jumlah cawan pada pengenceran pertama (ml); n2 adalah jumlah cawan pada pengenceran kedua (ml); d adalah tingkat pengenceran yang diperoleh dari cawan yang pertama dihitung (ml).

Proporsi bakteri yang berpotensi mendegradasi dapat diketahui dengan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{proporsi (\%)} = \frac{N}{\text{Total bakteri}} \times 100\% \quad (2)$$

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Isolat bakteri pendegradasi hidrokarbon dari setiap stasiun

Berdasarkan hasil isolasi yang dilakukan, diperoleh 6 isolat bakteri yang berpotensi mendegradasi hidrokarbon. Hasil ini diperoleh melalui pengamatan makroskopis, pengamatan mikroskopis dan uji biokimia. Hasil pengujian ini digunakan untuk pencirian dan identifikasi

Tabel 1
Isolat Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon dari Setiap Stasiun

Isolat	Stasiun – titik	Koordinat	Tempat ditemukannya isolat
DE 1	Stasiun I – titik 3	8°42'42.4" S 115°14'49.4" T	Tanah berpasir
DE 2	Stasiun II – titik 1	8°44'40.6" S 115°10'59.9" T	Tanah berlumpur
DE 3	Stasiun II – titik 2	8°44'40.7" S 115°11'02.6" T	Tanah berlumpur
DE 4	Stasiun III – titik 1	8°47'33.1" S 115°12'58.2" T	Tanah tanah liat
DE 5	Stasiun III – titik 2	8°47'27.5" S 115°13'05.3" T	Tanah tanah liat
DE 6	Stasiun III – titik 3	8°47'25.1" S 115°13'14.1" T	Tanah tanah liat

mikroorganisme. Keenam isolat tersebut tersebar pada masing – masing stasiun penelitian. Isolat DE 1 diperoleh dari stasiun I titik 3 (tanah mangrove berpasir); isolat DE 2 diperoleh dari stasiun II titik 1 (tanah mangrove berlumpur); isolat DE 3 diperoleh dari stasiun II titik 2 (tanah mangrove berlumpur); isolat DE 4 diperoleh dari stasiun III titik 1 (tanah mangrove tanah liat); isolasi DE 5 diperoleh dari stasiun III titik 2 (tanah mangrove tanah liat); isolasi DE 6 diperoleh dari stasiun III titik 3 (tanah mangrove tanah liat). Hasil selengkapnya dapat dilihat pada tabel 1.

Pada stasiun I dengan tanah tanah berpasir di titik 1 dan 2 tidak ditemukan isolat bakteri yang berpotensi mendegradasi hidrokarbon. Menurut Clarkson dan Robert (2016), tanah yang bertekstur pasir mempunyai luas permukaan (specific surface) yang kecil, sehingga sulit menyerap sumber hidrokarbon dan menahan air serta miskin oksigen dan nutrien. Menurut Pathak dan Bhatnagar (2011), hal ini mempengaruhi pertumbuhan dan aktivitas bakteri dalam mendegradasi hidrokarbon serta menjadi penyebab tidak ditemukannya aktivitas degradasi pada titik ini. Pada stasiun I titik 3 ditemukan 1 isolat bakteri pendegradasi, berdasarkan pengamatan titik 3 terletak dekat area pemukiman penduduk serta dijumpai sejumlah sampah plastik pada titik tersebut. Keberadaan biodegradasi hidrokarbon dapat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan. Kostka (2011) menyatakan, keberadaan bakteri pendegradasi hidrokarbon pada tanah akan meningkat dengan meningkatnya konsentrasi kontaminan. Sampah plastik yang berbahan dasar hidrokarbon dapat menjadi sumber energi bagi bakteri pendegradasi hidrokarbon untuk melakukan degradasi.

Pada tanah berlumpur ditemukan 2 isolat bakteri pendegradasi, masing – masing pada titik 1 dan 2. Berdasarkan pengamatan pada titik pengambilan sampel cenderung memiliki aktivitas yang tinggi untuk kontaminasi hidrokarbon,

seperti ada aliran limbah hidrokarbon yang berasal dari industri tekstil serta adanya jalan tol yang memungkinkan pencemaran hidrokarbon melalui asap kendaraan. Hal ini dapat menyebabkan ketersediaan sumber karbon bagi bakteri pendegradasi hidrokarbon meningkat.

Pada tanah liat ditemukan 3 isolat masing – masing 1 isolat pada setiap titiknya. Isolat bakteri pendegradasi hidrokarbon terbanyak ditemukan pada tanah ini. Menurut Clarkson dan Sani (2015) tanah liat mampu mendukung pertumbuhan bakteri pendegradasi hidrokarbon serta diketahui dapat meningkatkan aktivitas degradasi hidrokarbon karena kemampuannya dalam mengikat oksigen. Oksigen (O₂) merupakan reseptor elektron yang paling banyak digunakan dalam mendegradasi hidrokarbon. Hidrokarbon dipecah lebih cepat di bawah kondisi aerobik karena membantu meningkatkan kinerja bakteri pendegradasi.

3.2 Karakteristik Makroskopis Isolasi Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon dari Subtrat Mangrove

Hasil selengkapnya dari pengamatan makroskopis, dapat dilihat pada tabel 2. Koloni bakteri yang diisolasi pada penelitian ini memiliki bentuk bulat dan membentuk zona bening atau yang dikenal sebagai daerah halo. Koloni bakteri yang membentuk daerah halo merupakan koloni bakteri yang diduga mampu mendegradasi hidrokarbon pada hidrokarbon (Yolantika et al., 2015). Menurut Nababan (2008), zona bening yang terbentuk mengindikasikan adanya aktivitas surfaktan. Surfaktan terdiri atas molekul yang mempunyai bagian hidrofilik dan hidrofobik yang mampu menurunkan tegangan permukaan air dan minyak melalui pengikatan bagian hidrofilik surfaktan dengan air dan bagian hidrofobik dengan minyak. Surfaktan, melalui proses dispersi, dapat meningkatkan kelarutan minyak, hal ini menyebabkan terbentuknya zona bening di sekitar

Tabel 2
Karakteristik Isolat Bakteri yang Berpotensi Mendegradasi Hidrokarbon

Isolat	Bentuk koloni	Tepi koloni	Elevasi koloni	Warna koloni	Permukaan koloni
DE 1	Round	entire	flat	Putih	Berkilau dan halus
DE 2	Round	entire	flat	Putih	Halus, tidak berkilau
DE 3	Round	entire	flat	Putih	Halus, tidak berkilau
DE 4	Round	entire	flat	Putih-kekuningan	Halus, tidak berkilau
DE 5	Round	entire	flat	Putih-kekuningan	Halus, tidak berkilau
DE 6	Round	entire	flat	Putih-kekuningan	Halus, tidak berkilau

koloni bakteri yang menjadi indikasi adanya aktivitas degradasi hidrokarbon oleh bakteri.

Zona bening yang terbentuk dapat mengindikasikan aktivitas enzim lipase. Turunnya kadar lemak disebabkan karena hidrolisis menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Asam yang terbentuk dapat memecah komponen minyak kompleks menjadi komponen yang lebih sederhana. Asam lemak bebas ini mudah mengalami kerusakan sehingga menurunkan kadar lemak (Elyza et al., 2015).

3.3 Karakteristik Mikroskopis Isolasi Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon dari Subtrat Mangrove

Pengamatan mikroskopis dilakukan untuk mengetahui bentuk sel bakteri yang diduga mampu mendegradasi hidrokarbon. Dari pengamatan yang dilakukan diperoleh hasil 1 isolat memiliki bentuk sel kokobasili, yaitu isolat DE 1, 2 isolat memiliki bentuk kokus yaitu, isolat DE 4 dan DE 5. Tiga isolat lainnya yaitu isolat DE 2, DE 3 dan isolat DE 6 memiliki bentuk sel basil. Hasil selengkapnya dari pengamatan mikroskopis, dapat dilihat pada tabel 3 sebagai berikut:

Tabel 3
Karakteristik Mikroskopis Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon

No.	Kode Isolat	Bentuk sel
1.	DE 1	Kokobasili
2.	DE 2	Basil
3.	DE 3	Basil
4.	DE 4	Kokus
5.	DE 5	Kokus
6.	DE 6	Basil

3.4 Uji Biokimia Isolasi Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon dari Subtrat Mangrove

Pengujian biokimia pada isolat menunjukkan sifat metabolisme dari bakteri. Hal ini menjadi dasar identifikasi pada bakteri. Berdasarkan pengujian

Gram yang dilakukan terhadap 6 isolat, terdapat 4 isolat yang termasuk Gram negatif (-) dan 2 isolat termasuk dalam Gram positif (+). Adapun 4 isolat yang merupakan Gram (-) yaitu DE 1, DE 2, DE 4 dan DE 5, sedangkan 2 isolat lainnya yaitu DE 3 dan DE 6 merupakan Gram positif (+).

Dari uji katalase dan uji oksidase yang dilakukan pada isolat, diketahui bahwa semua isolat yang ada yaitu isolat DE 1, DE 2, DE 3, DE 4, DE 5 dan DE 6 menunjukkan positif terhadap uji katalase dan uji oksidase. Hasil selengkapnya dari uji biokimia isolat bakteri yang diduga mampu mendegradasi hidrokarbon, dapat dilihat pada tabel 4 berikut:

Tabel 4
Uji Biokimia Isolat Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon

Isolat	Uji Biokimia		
	Gram	Katalase	Oksidase
DE 1	-	+	+
DE 2	-	+	+
DE 3	+	+	+
DE 4	-	+	+
DE 5	-	+	+
DE 6	+	+	+

Uji Gram dalam penelitian ini diamati dengan terbentuknya lendir atau tidak pada isolat yang ditetesi dengan KOH 3%. Pada pengujian dengan KOH 3% jika terbentuk lendir terjadi karena salah satu sifat Gram (-) memiliki dinding sel tipis yang menyebabkan KOH 3% mampu memecah/menembus sehingga dihasilkanlah lendir. Hal ini sependapat dengan Cappucino dan Sherman (2014) yang mengatakan, Gram (-) berlemak tebal dan berdinding sel tipis yang berada di ruang periplasma. KOH 3% akan menyerang lemak (bilayer lipid) ini dan membuat sel Gram (-) pecah yang memberikan hasil seperti lendir saat diangkat dengan jarum inokulum, sedangkan pada bakteri Gram (+) isolat tetap cair

saat ditetesi KOH 3% karena KOH 3% tidak mampu menembus dinding sel bakteri yang tebal.

Hasil uji katalase menunjukkan semua isolat bereaksi positif terhadap uji katalase yang ditandai dengan terbentuknya gelembung. Bakteri yang menghasilkan enzim katalase menguraikan H₂O₂ menjadi 2H₂O dan O₂. Kehadiran enzim ini ditandai dengan terbentuknya gelembung yang artinya uji positif. Kebanyakan bakteri aerob dan anaerob fakultatif yang menggunakan O₂ juga menghasilkan H₂O₂ yang bersifat racun bagi sistem enzimnya sendiri. Namun bakteri tersebut dapat tetap hidup karena dihasilkannya enzim katalase (Cappuccino and Sherman, 2014).

Uji biokimia terakhir merupakan uji oksidase. Uji ini dilakukan dengan menggunakan kertas oksidase yaitu kertas saring yang sudah mengandung reagen uji p-aminodimetililin oksalat. Diambil koloni bakteri kemudian oleskan pada kertas oksidase tersebut. Reagen p-aminodimetililin oksalat bekerja dengan memberikan elektron dengan demikian menyebabkan oksidasi. Warna ungu gelap di permukaan koloni pada pengujian ini indikatif produksi sitokrom oksidase dan menunjukkan uji oksidase positif. Apabila tidak terjadi perubahan warna pada kertas oksidase mengindikasikan tidak adanya aktivitas oksidase sehingga hasil uji negatif (Cappuccino and Sherman, 2014).

3.5 Identifikasi Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon dari Tanah Mangrove Berpasir, Berlumpur, dan Tanah Liat

Berdasarkan pengamatan makroskopis, pengamatan mikroskopis dan uji biokimia, maka dilakukan identifikasi bakteri untuk mengetahui genus bakteri yang berpotensi melakukan yang degradasi hidrokarbon. Hasil selengkapnya dari identifikasi bakteri pendegradasi hidrokarbon, dapat dilihat pada tabel 5 berikut.

Tabel 5
Identifikasi bakteri pendegradasi hidrokarbon

Isolat	Genus	Tanah
DE 1	<i>Alcaligenes</i>	berpasir
DE 2	<i>Pseudomonas</i>	berlumpur
DE 3	<i>Bacillus</i>	berlumpur
DE 4	<i>Alcaligenes</i>	tanah liat
DE 5	<i>Alcaligenes</i>	tanah liat
DE 6	<i>Bacillus</i>	tanah liat

Identifikasi ini memperoleh hasil isolat DE 1, DE 4 dan DE 5 berasal dari 1 genus yang sama yaitu *Alcaligenes*. Isolat DE 2 merupakan genus *Pseudomonas* ditemukan pada tanah berlumpur, isolat DE 3 yang ditemukan pada tanah berlumpur dan isolat DE 6 pada tanah liat merupakan genus *Bacillus*. Bakteri yang ditemukan dalam penelitian ini berpotensi mendegradasi senyawa hidrokarbon, bakteri ini dikenal sebagai bakteri hidrokarbonoklastik.

a. Genus *Alcaligenes*

Dalam penelitian ini diperoleh isolat bakteri yang teridentifikasi sebagai genus *Alcaligenes*. Menurut penelitian Ethica et al. (2018), Genus ini dapat diisolasi pada tanah. Dalam penelitian ini genus *Alcaligenes* ditemukan pada substrat mangrove berpasir. Genus *Alcaligenes* diidentifikasi sebagai Gram negatif yang memiliki bentuk batang dan bulat. Hasil uji biokimi menentukan genus ini positif terhadap uji katalase dan oksidase (Holt et al., 1994). Prayitno dan Sopiah (2016), menyebutkan bahwa genus *Alkaligenes* dapat mendegradasi senyawa phenol. Menurut Ethica et al. (2018), Genus *Alcaligenes* memiliki kemampuan memproduksi enzim lipase yang mengindikasikan dapat mendegradasi minyak sehingga dapat dimanfaatkan pada lingkungan yang tercemar hidrokarbon. Enzim lipase mampu menghidrolisis lemak menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Asam yang terbentuk dapat memecah komponen minyak kompleks menjadi komponen yang lebih sederhana (Elyza et al., 2015).

b. Genus *Pseudomonas*

Genus ini ditemukan pada tanah mangrove berlumpur. Menurut Clarkson dan Robert (2016), Genus *Pseudomonas* mempunyai potensi tertinggi dalam mendegradasi hidrokarbon minyak bumi baik pada media air laut maupun air tawar. Selain itu, Thatoi et al. (2012) berhasil mengisolasi genus *Pseudomonas* dari ekosistem mangrove, genus *Pseudomonas* dan *Bacillus* merupakan genus terbanyak yang ditemukan pada ekosistem ini. Genus *Pseudomonas* diidentifikasi sebagai Gram negatif yang memiliki bentuk batang. Hasil uji biokimia menunjukkan genus ini positif terhadap uji katalase dan oksidase (Holt et al., 1994). Menurut Clarkson dan Robert (2016), Genus *Pseudomonas* adalah bakteri yang paling dikenal mampu memanfaatkan hidrokarbon sebagai sumber karbon dan energi dan menghasilkan

biosurfaktan. Biosurfaktan dapat bertindak sebagai agen pengemulsi dengan mengurangi tegangan permukaan. Genus *Pseudomonas* diketahui menghasilkan produksi dari biosurfaktan tipe rhamnolipid (Nilanjana dan Preethy, 2011). Menurut Sopiah et al. (2011), *Pseudomonas* mampu mendegradasi senyawa Poly Aromatic Hydrocarbon (PAH) mampu memanfaatkan naftalen, phenantren dan BTEX sebagai sumber energi.

c. Genus *Bacillus*

Dalam penelitian ini diperoleh isolat bakteri yang teridentifikasi dalam genus *Bacillus*. Genus ini ditemukan pada tanah mangrove tanah liat. Genus ini ditemukan pada substrat mangrove tanah liat. Menurut penelitian Clarkson dan Robert (2016), Genus *Bacillus* berpotensi mendegradasi hidrokarbon dan dapat ditemukan pada ekosistem mangrove. Genus *Bacillus* diidentifikasi sebagai Gram positif yang memiliki bentuk batang. Hasil uji biokimi menuntukkan genus ini positif terhadap uji katalase dan oksidase (Holt et al., 1994). Menurut penelitian Darsa et al. (2014), salah satu spesies dari genus *Bacillus* yaitu *B. subtilis* sangat efektif dalam degradasi hidrokarbon. Hasil penelitian Mbachu et al. (2014) menunjukkan *Bacillus* sp. memiliki potensi tertinggi dalam mendegradasi hidrokarbon yaitu sebesar 66,67% jika dibandingkan dengan *Pseudomonas* sp (58,33%) dan *Flavobacterium* sp (53,57%). Menurut Nilanjana dan Preethy (2011) genus *Bacillus* menghasilkan biosurfaktan tipe glikolipid dan terdapat pula enzim cytochrome P450 (Steven et al., 2013) yang membantu proses degradasi.

Menurut Clarkson dan Robert (2016), proses biodegradasi memerlukan tipe tanah yang dapat mendukung kelancaran aliran nutrisi, enzim-enzim mikrobial dan air. Terhentinya aliran tersebut akan mengakibatkan terbentuknya kondisi anaerob sehingga proses biodegradasi aerobik menjadi tidak efektif.

Saat terjadinya biodegradasi, enzim-enzim yang diproduksi oleh mikroba memodifikasi senyawa kimia berbahaya dengan mengubah struktur kimianya seperti dengan cara memotong rantai hidrokarbon menjadi lebih pendek, membuka ikatan karbon pada cincin aromatik dan menghasilkan alkohol primer (Hasyimuddin et al., 2016). Menurut Nababan (2008), proses degradasi ini dapat juga dilakukan dengan pemberian satu molekul oksigen maka enzim dapat mendegradasi

PAH selanjutnya molekul-molekul ini akan digunakan oleh mikroba sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhan dan energi. Oleh karena itu, dalam proses biotransformasi yang berujung pada biodegradasi, struktur senyawa kimia kompleks terdegradasi, akhirnya menjadi metabolit yang tidak berbahaya dan tidak beracun (Aguskrisno, 2011).

3.6 Proporsi Keberadaan Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon dari Tanah Mangrove Berpasir, Berlumpur, dan Tanah Liat

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, diperoleh nilai beragam dari proporsi keberadaan bakteri pendegradasi hidrokarbon pada masing – masing stasiun. Selengkapnya tentang proporsi keberadaan bakteri pendegradasi pada setiap stasiun dapat dilihat pada tabel 6, tabel 7, dan tabel 8.

Proporsi keberadaan bakteri yang berpotensi mendegradasi hidrokarbon dari tanah mangrove menunjukkan hasil berbeda – beda pada setiap stasiun. Nilai proporsi keberandaan isolat bakteri yang berpotensi mendegradasi hidrokarbon tertinggi berada di stasiun III titik 1 tanah liat dengan nilai 58,51% pada tanah mangrove tanah liat. Nilai proporsi terendah berada pada stasiun I titik 1 dan 2 dengan tanah berpasir serta stasiun II titik 3 pada tanah berlumpur, dengan nilai proporsi sebesar 0%.

Menurut Hasyimuddin et al. (2016), perbedaan proporsi bakteri yang tumbuh pada setiap lokasi ini dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan di sekitarnya. Dalam hal ini, kondisi lingkungan yang mempengaruhi laju pertumbuhan bakteri dapat dipengaruhi oleh kondisi tanahnya. Apabila kondisi tanahnya sesuai, maka laju pertumbuhannya akan dominan, sebaliknya apabila kondisi tanah tidak sesuai maka laju pertumbuhannya akan lambat (Elyza et al., 2015). Menurut penelitian Clarkson dan Sani (2015), degradasi hidrokarbon pada tanah dipengaruhi oleh interaksi antara bakteri dengan sifat fisik tanah seperti porositas, distribusi ukuran partikel, struktur tanah dan permeabilitas.

Tanah liat memiliki diameter terkecil yaitu (<0,002 mm) jika dibandingkan dengan diameter tanah berpasir (2,00 - 0,05 mm), dan berlumpur (0,005 - 0,02 mm). Hal ini menyebabkan tanah liat memiliki kemampuan untuk mengikat sumber hidrokarbon, air, nutrisi, dan oksigen

Tabel 6
Proposi Keberadaan Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon dari Tanah Mangrove Berpasir

Stasiun I	Titik 1		Titik 2		Titik 3	
	= Halo	≠ Halo	= Halo	≠ Halo	= Halo	≠ Halo
Jumlah bakteri (...x10 ⁵ cfu/g)	0	18,33	0	13,67	5,33	14,67
Proporsi (%)	0%	100%	0%	100%	26,67%	73,33%

Tabel 7
Proposi Keberadaan Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon dari Tanah Mangrove Berlumpur

Stasiun II	Titik 1		Titik 2		Titik 3	
	= Halo	≠ Halo	= Halo	≠ Halo	= Halo	≠ Halo
Jumlah bakteri (...x10 ⁵ cfu/g)	12,00	14,33	9,67	9,33	0	16
Proporsi (%)	45,57%	54,43%	50,88%	49,12%	0%	100%

Tabel 8
Proposi Keberadaan Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon dari Tanah Mangrove Tanah liat

Stasiun III	Titik 1		Titik 2		Titik 3	
	= Halo	≠ Halo	= Halo	≠ Halo	= Halo	≠ Halo
Jumlah bakteri (...x10 ⁵ cfu/g)	18,33	13	9,67	11	15,67	12,67
Proporsi (%)	58,51%	41,49%	46,77%	53,23%	55,29%	44,71%

Keterangan:

= Halo: membentuk zona bening (mengindikasikan daerah yang berpotensi terhadap keberadaan bakteri pendegradasi hidrokarbon)

≠ Halo: tidak membentuk zona bening (mengindikasikan daerah yang tidak berpotensi terhadap keberadaan bakteri pendegradasi hidrokarbon)

yang lebih tinggi, jika dibandingkan tanah bertekstur pasir (Kurnia et al., 2006).

Hal ini sejalan dengan pendapat Clarkson dan Sani (2015) yang menyatakan, tanah liat memiliki ukuran partikel yang memungkinkan pengikatan hidrokarbon sebagai sumber energi bakteri pendegradasi. Selain itu menurut Kurnia et al., (2006), tanah liat dinilai mampu menyimpan nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri. Biodegradasi hidrokarbon oleh bakteri pada umumnya terkait dengan ketersediaan nutrisi berupa nitrogen dan fosfor. Nitrogen merupakan unsur pokok protein dan asam nukleat yang berperan dalam pertumbuhan, perbanyakan

dan pembentukan dinding sel. Fosfor merupakan komponen utama asam nukleat dan lemak sel membran yang berperan dalam proses pemindahan energi secara biologi (Nababan, 2008). Setiawan (2013) menyatakan, tanah liat cenderung memiliki bahan organik lebih tinggi jika dibandingkan tanah berpasir dan berlumpur. Hal ini disebabkan karena adanya dekomposisi serasah yang ikut menentukan tekstur tanah dan adanya pengikatan partikel debu dan liat oleh akar vegetasi mangrove yang mengindikasikan tingginya bahan organik pada tempat tersebut. Keberadaan bahan organik pada tanah dapat meningkatkan

kemampuan tanah dalam mengikat oksigen, air dan nutrisi (Kurnia et al., 2006).

Pada stasiun I titik 1 dan 2 dengan tanah berpasir tidak ditemukan bakteri hidrokarbonoklastik. Selain itu pada stasiun II titik 3 tidak ditemukan pula bakteri pendegradasi hidrokarbon. Hal ini dapat dihubungkan dengan pendapat Clarkson dan Sani (2015) yang menyatakan bahwa tidak ditemukannya bakteri hidrokarbonoklastik pada daerah yang berpotensi dapat disebabkan karena rendahnya kemampuan bakteri dalam mendegradasi serta perlunya waktu yang cukup lama untuk bakteri dapat mendegradasi hidrokarbon.

4. Simpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan terdapat enam isolat bakteri yang berpotensi mendegradasi senyawa hidrokarbon. Lima isolat tersebut berasal dari genus *Alcaligenes* yang diisolasi dari tanah mangrove berpasir, *Pseudomonas* dan *Bacillus* yang ditemukan pada tanah mangrove berlumpur, serta dua genus bakteri yang ditemukan pada tanah mangrove tanah liat yaitu *Alcaligenes* dan *Bacillus*.

Tekstur tanah yang berbeda, mempengaruhi keberadaan bakteri pendegradasi hidrokarbon. Nilai proporsi keberadaan isolat bakteri yang berpotensi mendegradasi hidrokarbon tertinggi berada di stasiun 3 titik 1 dengan nilai 58,51% pada tanah mangrove tanah liat. Nilai proporsi terendah berada pada stasiun 1 titik 1 dan 2 dengan tanah berpasir serta stasiun 2 titik 3 pada tanah berlumpur, dengan nilai proporsi sebesar 0%.

Ucapan terimakasih

Penulis berterimakasih kepada teknisi laboratorium mikrobiologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana yang telah membantu dan memberikan saran dalam pengerjaan penelitian ini.

Daftar Pustaka

BSN. (2015). *Cara Uji Mikrobiologi – Bagian 3 Penentuan Angka Lempeng Total (ALT) pada Produk Perikanan*. Jakarta, Indonesia: Badan Standarisasi Nasional.

PPOMN. (2006). *Pusat pengujian obat dan makanan negara. metode analisis pusat pengujian obat dan makanan*

nasional badan pengawasan obat dan makanan. Jakarta, Indonesia: Percetakan Negara.

- Banerjee, A., Roy, A., Dutta, S., Mondal, S. (2016). Bioremediation of hydrocarbon – a review. *International Journal of Advanced Research*, 4(6), 1303-1313.
- Cappuccino, J. G., & Sherman, N. (2014). *Microbiology: A Laboratory Manual*. (10th ed.). New York, USA: Pearson.
- Clarkson, M. A., & Robert, C. (2016). Effects of soil texture and amendment options on bioremediation of hydrocarbons in soil. *International journal of Multidisciplinary Studies*. 1(2), 1-14.
- Clarkson, M. A & Sani, I. A. (2015). Bioremediation and biodegradation of hydrocarbon contaminated soils: a review. *Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 9(11), 38 – 45.
- Darsa, K.V., Thatheyus A. J & Ramya, D. (2014) Biodegradation of petroleum compound using the bacterium *Bacillus subtilis*. *Science International* 10(17311), 20–25.
- Djajusman, S. K., Udijanto T & Irmawati. (2014). Daya hambat xylitol dan nistation terhadap pertumbuhan *Candida albicans* (*in vitro*). *Dental Journal*, 47(3), 164–167.
- Elyza, F., Nuni, G., & Munawar. (2015). Identifikasi dan uji potensi bakteri lipolitik dari limbah sbe (*spent bleaching earth*) sebagai agen bioremediasi. *Jurnal Ilmu Lingkungan*, 13(1), 12-18.
- Ethica, S. N., Oedijono., Semiarti E., Widada, J., Raharja, T. J. (2018). Genotypic and phenotypic characterization of *alcaligenes javaensis* jg3 potential as an effective biodegrader. *Biotropia*, 25(1), 1–10.
- Hasyimuddin., Djide, M. N., & Samawi, M. F. (2016). Isolasi bakteri pendegradasi minyak solar dari perairan teluk pare-pare. *Jurnal Ilmiah Biologi Biogenesis*, 4(1), 41–46.
- Holt, Krieg, Sneath, Staley & William. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. (9rd ed.). Baltimore: Williams and Wilkins Company.
- Kostka, J. E. (2011). Hydrocarbon-degrading bacteria and the bacterial community response in gulf of mexico beach sands impacted by the deepwater horizon oil spill. *Journal Application Enviroment Microbiology*, 77(22), 7962–7974.
- Kurnia, U., Agus, F., Adimihardja, A., Dariah, Ai. (2006). *Sifat Fisik Tanah dan Metode Analisisnya*. (1st ed) Jakarta, Indonesia: Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian.
- Mbachu, A. E., Onochie, C. C., Agu, K. C., Okafor, O. I., & Awah, N. S. (2014). Hydrocarbon degrading potentials of indigenous bacteria isolated from auto-mechanic workshops at mgbuka-nkpor, nigeria. *Journal of Global Bioscience*, 3(1), 321–326.
- Nababan, B. (2008). *Isolasi dan Uji Potensi Bakteri Pendegradasi Minyak Solar dari Laut Belawan*. Tesis.

- Medan, Indonesia: Sekolah Pascasarjana, Universitas Sumatera Utara.
- Nilanjana, D., & Preethy, C. (2011). Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: an overview. *Biotechnology Research International*, *1*(1), 0–13.
- Pathak, H & Bhatnagar, K. (2011). Alcaligenes-the 4t engine oil degrader. *Journal of Bioremediation & Biodegradation*, *2*(4), 1–4.
- Prayitno, J., & Sopia, N. (2016). Degradasi senyawa fenol oleh bakteri yang diisolasi dari area pertambangan minyak bumi. *Jurnal Teknologi Lingkungan*, *17*(2), 126–131.
- Setiawan, H. (2013). Status ekologi hutan mangrove pada berbagai tingkat ketebalan. *Jurnal Penelitian Kehutanan Wallacea*, *2*(2), 104–120.
- Sihag, S., Pathak, H., & Jaroli. (2014). Factors affecting the rate of biodegradation of polyaromatic hydrocarbons. *Internatiional journal of Pure & Applied Bioscience*, *2*(3), 185–202.
- Steven, L., Kelly & Diane, E. K. (2003). Microbial cytochromes P450: biodiversity and biotechnology. Where do cytochromes P450 come from, what do they do and what can they do for us?. *The Royal Society Publishing*, *368*(1612), 1–31.
- Sopia, N., Oktaviani, A. N., Sulistia, S., Suciati, F., Aviantara, D. B. (2011). Isolasi dan identifikasi bakteri pendegradasi hidrokarbon yang berasal dari tanah tercemar minyak bumi. *Jurnal Teknologi dan Lingkungan*, *12*(3), 291–298.
- Taqwa, R. N., Muskananfolo, M. R., & Ruswahyuni. (2014). Studi hubungan tanah dasar dan kandungan bahan organik dalam sedimen dengan kelimpahan hewan makrobenthos di muara sungai sayung kabupaten demak. *Diponegoro Journal of Maquare*, *3*(1), 125–133.
- Thatoi, H., Behera, B. C., Dangar, T. K., & Mishra, R.R., (2012). Microbial Biodiversity in Mangrove soils of Bhitarkanika, Odisha, India. *International Journal of Environmental Biology* *2*(2): 50 – 58.
- Wirajana, I. N., Yuliana, D. A., & Ratnayani, K. (2013). Isolasi DNA Metagenomik dari Tanah Hutan Mangrove Pantai Suwung Bali. *Jurnal Kimia*, *7*(1), 19–24.
- Yolantika, H., Periadnadi & Nurmiati. (2015) Isolasi bakteri pendegradasi hidrokarbon di tanah tercemar lokasi perbengkelan otomotif. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, *4*(3), 153–157.

© 2021 by the authors; licensee Udayana University, Indonesia. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution license (<http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>).