

ISOLASI DAN APLIKASI MIKROBA INDIGEN PENDEGRADASI HIDROKARBON DARI TANAH TERCEMAR MINYAK BUMI

Dadang Sudrajat, Nana Mulyana, dan Tri Retno DL.

Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, Badan Tenaga Nuklir Nasional, Jl. Lebak Bulus Raya No. 49, Jakarta

12440Telp. 021-7690709 ,Fax. 021-7691607

E-mail : dadangs61@batan.go.id

ABSTRAK

ISOLASI DAN APLIKASI MIKROBA INDIGEN PENDEGRADASI HIDROKARBON DARI TANAH TERCEMAR MINYAK BUMI. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan mikroba indigen unggul dari kelompok bakteri dan fungi yang berpotensi mendegradasi hidrokarbon dari lahan tercemar minyak bumi. Penelitian yang telah dilakukan adalah isolasi, seleksi, dan identifikasi mikroba potensial pendegradasi hidrokarbon pada tanah tercemar minyak bumi di daerah Cepu, Jawa Timur. Uji pertumbuhan dan kemampuan isolat dalam mendegradasi hidrokarbon dilakukan dengan inokulasi isolat dalam medium Media Garam Mineral (MSM) yang mengandung minyak mentah (crude oil) 1%. Uji viabilitas dan stabilitas isolat terpilih dilakukan pada bahan pembawa kompos iradiasi yang mengandung 5% minyak bumi. Empat jenis konsorsia mikroba terpilih meliputi konsorsia Mikroba I, II, III, dan IV diuji kemampuannya dalam mendegradasi minyak bumi secara *in vitro*. Hasil penelitian menunjukkan dari isolasi mikroba, diperoleh 62 isolat yang terdiri dari 42 isolat bakteri dan 20 isolat kapang. Dari 42 isolat bakteri hanya 8 isolat yang berpotensi mendegradasi hidrokarbon, tiga (3) isolat diantaranya teridentifikasi *Bacillus cereus* (Kode BMC2), *Bacillus Sp* (Kode BMC4), dan *Pseudomonas sp* (BMC6). Sedangkan dari 20 isolat kapang, hanya 4 yang menunjukkan kemampuan pendegradasi hidrokarbon 2 (dua) isolat yang sudah diidentifikasi yaitu *Aspergillus fumigatus* (FMC 2) dan *Aspergillus niger* (FMC6). Semua isolat dapat tumbuh baik dalam media yang mengandung minyak bumi disertai penurunan pH media. Kemampuan penurunan TPH setelah hari ke-30 dari masing-masing isolat bakteri dan kapang adalah sebesar 54, 61, 67, 74, dan 78%. Hasil uji viabilitas dan stabilitas isolat terpilih dalam bahan pembawa kompos iradiasi, menunjukkan pertumbuhan ketiga isolat bakteri dan dua isolat kapang selama 14 hari penyimpanan. Dari empat (4) macam formula konsorsia inokulan yang diuji kemampuannya dalam mendegradasi hidrokarbon, konsorsia Mikroba III (BMC6, BMC2, dan FMC 6) merupakan konsorsia terbaik dalam menurunkan persentase minyak terdegradasi (%TPH) yaitu sebesar 89,1% dalam 5 minggu.

Kata Kunci: tanah tercemar, isolasi mikroba, hidrokarbon, konsorsia mikroba, kompos iradiasi.

ABSTRACT

ISOLATION AND APPLICATION OF HYDROCARBON DEGRADATION OF INDIGENOUS MICROBIAL FROM OIL CONTAMINATED SOIL. The aims of this research are to obtain indigenous potential microbes from bacterial and fungal groups which have capable of degrading hydrocarbon from crude oil contaminated soil. The research carried out were isolation, selection, and identification potential microbial isolates capable of degrading hydrocarbon from oil contaminated soil located at Cepu East Java. The isolates were tested for their growth and ability to degrade crude oil. Each isolate was inoculated into minimum mineral salt medium (MSM) contained 1% crude oil. Viability and stability test of selected isolates were carried out on irradiated compost carrier materials contained 5% crude oil. The four series microbial consortium consists of microbial consortium I, II, III, and IV were tested for the *in vitro* biodegradability of hydrocarbon. The results show there sixty two (62) isolates are obtained, among them 42 bacteria and 20 molds. From 42 bacterial isolates, only 8 strains were potent hydrocarbon degraders. Three of these isolates are identified *Bacillus cereus* (BMC2), *Bacillus sp* (BMC4), and *Pseudomonas sp* (BMC6). Whereas from 20 fungal isolates, only 4 strains were potent hydrocarbon degraders. Two of these isolates are identified *Aspergillus fumigatus* (FMC2) and *Aspergillus niger* (FMC6). All isolates show good growth in mineral salt medium contained crude oil with decrease in pH. The ability of decrease of TPH content by the bacterial and fungal isolates were 54, 61, 67, 74, and 78% respectively at day 30. The viability and stability of microbial isolates show considerable good viability on irradiated compost carrier materials after 14 days storage. From the four series microbial consortium, the highest TPH degradation rates is found in microbial consortium III (BMC6, BMC2, and FMC6) with 89,1% in 5 weeks.

Keywords: contaminated soil, microbial isolation, hydrocarbon, microbial consortia, irradiation compost

PENDAHULUAN

Limbah minyak terdiri atas bermacam-macam senyawa, diantaranya berupa hidrokarbon ringan, hidrokarbon berat, pelumas, dan bahan ikutan dalam hidrokarbon. Kegiatan Industri perminyakan dapat menimbulkan limbah yang mencemari lingkungan. Selain itu proses pengeboran dan pengilangan minyak bumi juga menghasilkan lumpur minyak dalam jumlah besar. Lumpur minyak merupakan polutan yang sangat berbahaya, UU No. 23 tahun 1997 dan PP No. 18 tahun 1999 mengategorikan lumpur minyak sebagai limbah B3 (Bahan Kimia berbahaya dan Beracun) [1].

Pengolahan limbah minyak bumi dilakukan secara fisika, kimia dan biologi. Pengolahan secara fisika dilakukan untuk pengolahan awal yaitu dengan cara melokalisasi tumpahan minyak menggunakan pelampung pembatas (*oil booms*), yang kemudian akan ditransfer dengan perangkat pemompa (*oil skimmers*) ke sebuah fasilitas penerima reservoir baik dalam bentuk tangki ataupun balon dan dilanjutkan dengan pengolahan secara kimia, namun biayanya mahal dan dapat menimbulkan pencemar baru. Pengolahan limbah secara biologi merupakan alternatif yang efektif dari segi biaya dan aman bagi lingkungan. Pengolahan dengan metode biologis disebut juga bioremediasi, yaitu bioteknologi yang memanfaatkan makhluk hidup khususnya mikro-organisme untuk menurunkan konsentrasi atau daya racun bahan pencemar [2].

Penanganan limbah minyak berat dengan menggunakan konsorsium bakteri pendegradasi senyawa hidrokarbon dilakukan untuk mengatasi pencemaran lingkungan oleh limbah minyak bumi. Banyaknya spesies bakteri yang mampu mendegradasi hidrokarbon kemungkinan berhubungan dengan ketersediaan hidrokarbon secara universal di alam sebagai hasil dekomposisi tumbuhan dan pelepasan minyak bumi dari cadangan geologis [3].

Salah satu sumber mikroba pendegradasi minyak bumi yang telah banyak dieksplorasi adalah lingkungan tercemar limbah minyak bumi. Isolat yang mendominasi di lingkungan tersebut terdiri atas beberapa genera, yaitu *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Acinetobacter*, *Nocardia*, *Achromobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, dan *Pseudomonas*. Di samping itu juga ditemukan sejumlah jamur pendegradasi minyak bumi, yaitu dari genera *Aureobacterium*, *Candida*, *Rhodotorula*, *Sporobolomyces* yang diisolasi dari lautserta *Trichoderma* dan *Mortierella* yang diisolasi dari tanah. Penelitian pada isolat *Aspergillus* dan *Penicillium* yang diisolasi dari laut dan tanah menunjukkan bahwa kedua mikroba ternyata juga berperandalam proses degradasi minyak bumi [4]. Mikroba pengurai minyak bumi dapat ditemukan di tanah, air laut, dan sebagainya. Mikroba dapat berupa bakteri ataupun kapang. Secara umum

mikroba dapat hidup kondisi pH 6-8. Rengatavasi, T dan Ibrahim, MB [5], menyatakan bahwa pH 7.8 merupakan pH optimum untuk biodegradasi hidrokarbon minyak bumi pada tanah. Salah satu faktor yang mempengaruhi kemampuan mikroba dalam menguraikan minyak bumi ialah suhu lingkungan. Berdasarkan suhu optimum pertumbuhannya, mikroba dapat dikelompokkan menjadi 3, yaitu psikrofilik, yang suhu optimum pertumbuhannya 5- 15 °C, mesofilik 25-40 °C, dan termofilik 45-60 °C. Beberapa jenis bakteri yang merupakan pendegradasi hidrokarbon yang efektif di lingkungan alami telah diisolasi antara lain *Pseudomonas aeruginosa*, *P. putida*, *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *B. laterospor*. Ada beberapa keuntungan yang didapat dari mikroba pendegradasi minyak, antara lain populasi alami sudah beradaptasi dan berkembang dengan baik di lingkungannya dan kemampuan untuk menggunakan hidrokarbontelah disebarkan dalam populasi mikroba, populasi ini terbentuk secara alamiah dan di daerah tercemar yang jumlah mikroba cukup tidak perlu lagi ditambahkan untuk membantu degradasi [6]. Kemampuan bakteri pendegradasi minyak bumi dapat ditingkatkan dengan membuat suatu kultur campuran (konsorsia).

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan mikroba indigen unggul dari kelompok bakteri dan fungi yang berpotensi mendegradasi hidrokarbon dari berbagai lokasi tercemar minyak bumi dan menguji viabilitas dan stabilitas, dalam bahan pembawa kompos iradiasi serta menguji kemampuan isolat atau konsorsia mikroba dalam mendegradasi minyak bumi secara *in vitro*, sehingga pada akhirnya diperoleh suatu konsorsia untuk diaplikasikan di lingkungan tercemar minyak bumi.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Peralatan

Bahan-bahan yang digunakan adalah media *Nutrient Agar* (NA), *Tryptic Soy Broth* (TSB), *Tryptic Soy Agar* (TSA), *Potatoes Dextrose Agar* (PDA), *Saboraud Dextrose Agar* (SDA), *Czapek Doc*, medium Garam Mineral (MSM), larutan Pewarna *Gram*, *lactophenol cotton blue*, n- heksan, larutan steril NaCl 0,85%, kertas saring, dan plastik tahan panas. Peralatan yang digunakan antara lain, peralatan mikrobiologi, autoklaf (DAIHAN, Scientific), pengocok, pH meter (Eutech Instrumens, Singapura), eksikator, neraca analitik (Acculab BL 210, Sartorius, Germany), Spektrofotometer UV-VIS (Hitachi, Japan) dan peralatan gelas.

Pengambilan dan Preparasi Contoh

Contoh limbah diambil dari 5 titik tanah yang tercemar minyak bumi daerah Cepu, Jawa Timur. Contoh tanah tersebut dimasukkan kedalam kantong

plastik dan diberi label yang memberikan keterangan mengenai lokasi dan waktu pengambilannya.

Isolasi dan Seleksi Mikroba Potensial

Isolasi mikroba dilakukan dengan metode pengenceran berseri. Contoh tanah ditimbang sebanyak 10 g, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer ukuran 250 ml, 90 ml larutan garam fisiologis steril (0,85% NaCl) ditambahkan ke dalam erlenmeyer dan ditutup. Suspensi tanah yang telah dikocok diambil 1 ml dengan menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah mengandung 9 ml NaCl 0,85% steril, sehingga didapatkan suspensi dengan tingkat pengenceran 10^{-2} . Seterusnya dilakukan pengenceran dengan cara yang sama sehingga diperoleh suspensi 10^{-6} . Selanjutnya disebar dalam medium agar *Nutrient Agar* untuk kelompok bakteri. Medium *PDA*, *SDA*, dan *cazpek Doc* untuk kelompok kapang/ragi. Koloni yang tumbuh kemudian diseleksi menggunakan medium garam mineral (*MSM*) yang komposisinya terdiri dari (g/L) : 0,8 NaCl; 0,8 KCl; 0,1 CaCl₂; 2,0 KH₂PO₄; 2,0 Na₂HPO₄; 0,2MgSO₄; 0,001 FeSO₄. *Crude oil* sebesar 1% ditambahkan pada medium. Pertumbuhan isolat bakteri diukur dengan pembacaan kerapatan optik (OD) pada spektrofotometer dan perubahan pH selama masa inkubasi [6]. Untuk memastikan bahwa genus isolat mikroba tersebut, maka dilakukan serangkaian pengujian yang bersifat spesifik meliputi pengamatan mikroskopis dan uji biokimia yang mengacu pada pedoman identifikasi bakteri [7]. Pada pengamatan mikroskopis didahului dengan melakukan pewarnaan *Gram* untuk isolat bakteri dan pewarnaan dengan *lactophenol cotton blue* untuk kapang, sehingga dapat dilihat bentuk-bentuk bakteri dan kapang. Sedangkan uji biokimia dan identifikasi sampai tingkat spesies dilakukan di Laboratorium Uji IPB Bogor.

Analisis Minyak Terdegradasi (%TPH)

Kadar minyak terdegradasi (%TPH) dianalisis secara Gravimetri [8,10]. Sebanyak 25 ml hasil perlakuan diekstrak dengan 25 ml larutan n-heksan. Campuran dikocok pada corong pemisah selama 30 menit, lalu didiamkan sampai n-heksana terpisah. Terdapat 3 lapisan yaitu minyak, n-heksana dan air. Air dibuang, lapisan minyak dan n-heksana disaring dengan kertas saring yang telah diolesi Na₂SO₄. Minyak dan n-heksana yang telah disaring dimasukkan dalam gelas kimia 50 ml yang sudah diketahui bobotnya, kemudian diuapkan pada suhu 70 °C sampai n-heksana habis. Lapisan minyak yang tertinggal ditimbang beratnya. Kadar minyak terdegradasi yang dilaporkan adalah kadar minyak yang dinyatakan dalam persentase (%). Kadar minyak terdegradasi dihitung dengan rumus,

$$\% \text{ TPH} = \frac{A - B}{A} \times 100 \%$$

Keterangan :

% TPH : Kadar minyak terdegradasi

A : Kadar minyak awal (kontrol)(g)

B : Kadar minyak terdegradasi (g)

Uji Viabilitas dan Stabilitas Mikroba dalam Bahan Pembawa Kompos Iradiasi

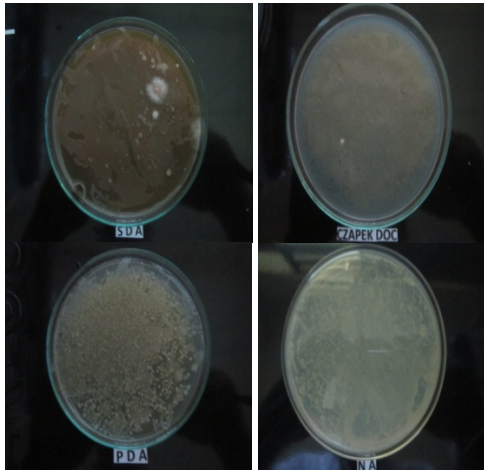
Isolat terpilih masing-masing dengan kepekatan 10^{12} sel/ml dalam medium TSB sebanyak 1 ml diinokulasikan pada *sachet* yang berisi 9 gr bahan pembawa berbasis kompos yang telah disterilkan dengan iradiasi 25 kGy, kemudian disimpan selama 14 hari. Tiap minggu dilakukan pengamatan viabilitas mikroba dalam bahan pembawa. Sebanyak 1 gram inokulan dimasukkan dalam larutan NaCl 0,85% steril pada tabung reaksi sebagai pengenceran pertama (10^{-1}). Selanjutnya diambil 100 µl dimasukkan ke dalam 900 µl larutan NaCl 0,85% dalam seri pengenceran sampai 10^{-11} . Dari pengenceran terakhir diambil 0,1 ml kemudian ditanam dalam media *TSA* untuk bakteri dan *PDA* dan *SDA* untuk kapang/ragi dalam cawan petri, dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam. Jumlah koloni bakteri dihitung dengan metode *plate count*.

Uji Degradasi Hidrokarbon menggunakan Konsorsia Mikroba Terpilih

Empat (4) jenis formula konsorsia mikroba terpilih terdiri dari Konsorsia I : *Bacillus cereus* (BMC2), *Bacillus* sp (BMC4), dan *Aspergillus fumigatus* (FMC2); Konsorsia II : *Pseudomonas* sp (BMC6), *Bacillus* sp (BMC4), dan *Aspergillus niger* (FMC6); Konsorsia III : *Bacillus cereus* (BMC2), *Pseudomonas* sp (BMC6), dan *Aspergillus niger* (FMC6); dan Konsorsia IV : *Bacillus sphaericus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Aspergillus niger* (FMC6). Dipersiapkan masing-masing dengan kerapatan sel dalam konsorsia adalah 10^{12} cfu /ml untuk bakteri dan 10^8 cfu/ml untuk kapang, kemudian diuji kemampuannya dalam mendegradasi minyak bumi secara *in vitro*. Media pertumbuhan konsorsia adalah *MSM* yang mengandung 5% minyak bumi, dan diinkubasi pada suhu 30 °C selama 5 minggu. Parameter yang diukur adalah hidrokarbon minyak bumi yang terdegradasi (%TPH).

HASIL DAN PEMBAHASAN

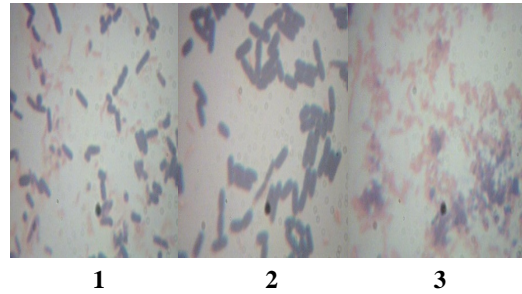
Hasil penelitian menunjukkan, sebanyak 62 isolat mikroba telah berhasil diisolasi dari contoh tanah tercemar minyak bumi daerah Cepu Jawa Timur, terdiri dari 42 isolat bakteri dan 20 isolat kapang. (Gambar 1).



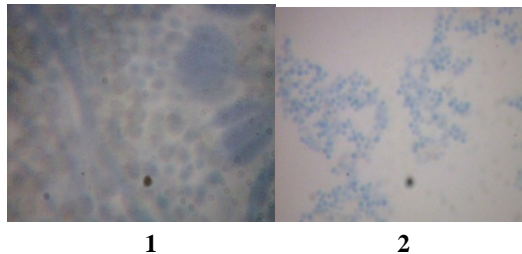
Gambar 1. Pertumbuhan mikroba yang diisolasi dari lumpur minyak bumi di daerah Cepu, Jawa Timur dalam beberapa media selektif, yaitu *SDA* untuk ragi, *Czapek Doc/PDA* untuk kapang, dan *Nutrient Agar (NA)* untuk bakteri.

Dari 42 isolat bakteri hanya 8 isolat yang berpotensi pendegradasi hidrokarbon yaitu isolat dengan kode BMC2, BMC4, BMC6, BMC9, BMC12, BMC15, BMC18, dan BMC22. Sedangkan dari 20 isolat kapang/ragi hanya 4 isolat yang berpotensi sebagai pendegradasi hidrokarbon yaitu isolat dengan kode FMC2, FMC3, FMC6, FMC17. Berdasarkan pengamatan didalam medium *MSM* yang mengandung 1% *crude oil*, semua isolat memiliki pertumbuhan yang baik.

Dari hasil seleksi dan identifikasi bakteri meliputi uji morfologi, pewarnaan *Gram*, dan biokimiawi diperoleh 8 isolat bakteri yang menunjukkan morfologi yang berbeda, yaitu bentuk koloni bundar, berwarna putih, krem dan bening, serta memiliki elevasi yang cembung dan datar. Hasil pewarnaan *Gram* memperlihatkan sel berbentuk batang (basil), ada yang bersifat *Gram* positif dan negatif (Gambar 2). Berdasarkan pada hasil uji biokimiawi menurut pedoman identifikasi bakteri [7], tiga (3) isolat terpilih diantaranya masing-masing menunjukkan strain *Bacillus cereus* (BMC2), *Bacillus* sp (BMC4), dan *Pseudomonas* (BMC6), seperti terlihat pada Tabel 1. Sedangkan dari 4 isolat kapang terpilih, pada hasil identifikasi berdasarkan morfologi dan gambaran mikroskopis didapat *Aspergillus fumigatus* (FMC2) dan *Aspergillus niger* (FMC6), sedangkan 2 isolat lain tidak dapat diidentifikasi, seperti terlihat pada Tabel 2 dan Gambar 3.



Gambar 2. Hasil pewarnaan *Gram* isolat bakteri terpilih pendegradasi hidrokarbon yang diisolasi dari tanah tercemar minyak bumi, Cepu Jawa Timur. 1. Isolat *Bacillus cereus* (BMC2) 2. Isolat *Bacillus* sp (BMC4) 3. Isolat *Pseudomonas* sp (BMC6).



Gambar 3. Gambaran mikroskopik isolat kapang terpilih pendegradasi minyak bumi yang diisolasi dari tanah tercemar minyak bumi Cepu, Jawa Timur, yaitu: 1. *Aspergillus fumigatus* (FMC2) 2. *Aspergillus niger* (FMC6).

Hasil pengujian kemampuan masing-masing isolat terpilih dalam mendegradasi hidrokarbon selama 30 hari inkubasi diperlihatkan pada Gambar 4. yaitu adanya penurunan *TPH*. Berdasarkan gambar tersebut penurunan *TPH* terbesar dicapai oleh isolat kapang *Aspergillus niger* (FMC6), yaitu 78%. Hal ini kemungkinan disebabkan *Aspergillus niger* merupakan mikroba yang berkemampuan enzimatik lebih lengkap untuk penguraian hidrokarbon, sehingga mampu mengoksidasi komponen minyak karena dapat mengoksidasi hidrokarbon yang digunakan sebagai donor elektronnya. Sementara urutan besarnya presentasi penurunan *TPH* isolat lainnya adalah isolat *Aspergillus fumigatus* (FMC2), *Pseudomonas* sp (BMC6), *Bacillus* sp (BMC4), dan *Bacillus cereus* (BMC2) masing-masing sebesar 74, 67, 61, dan 54%.

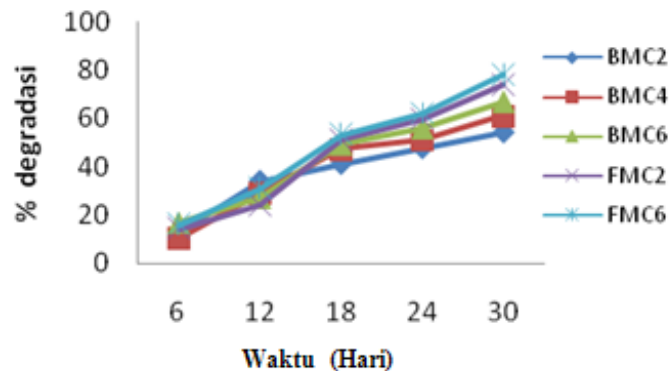
Tabel 1. Hasil uji biokimiawi penentuan spesies Isolat terpilih mikroba pendegradasi hidrokarbon yang diisolasi dari limbah minyak bumi daerah Cepu, Jawa Timur.

No	Jenis Uji	Isolat bakteri terpilih		
		BMC2 (<i>Bacillus cereus</i>)	BMC4 (<i>Bacillus sp</i>)	BMC6 (<i>Pseudomonas sp</i>)
1	Pewarnaan Gram	+	+	-
2	Bentuk	batang	batang	batang pendek
3	Pergerakan (motilitas)	+	+	+
4	Produksi Indol	-	-	-
5	<i>Methyl red</i>	-	-	-
6	<i>Voges proskauer</i>	-	+	-
7	Citrate	-	+	+
8	Produksi H ₂ S	-	+	-
9	Hidrolisis Urea	-	-	-
10	Uji Katalase	+	+	+
11	Fermentasi karbohidrat	+	+	-
12	Uji Glukosa	-	+	-
13	Uji manitol	-	+	-
14	Uji arabinosa	+	-	-
15	Hidrolisis gelatin	+	-	-
16	Hidrolisis kasein	+	+	+
17	Reduksi nitrat	+	+	+
18	Reduksi nitrit	+	-	+

Keterangan : + = Hasil positif
 - = Hasil negatif

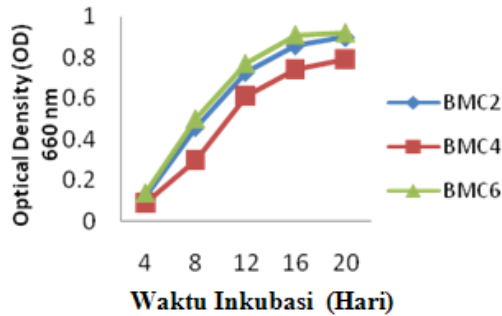
Tabel 2. Karakteristik dari isolat kapang terpilih pendegradasi minyak bumi yang diisolasi dari limbah minyak bumi daerah Cepu, Jawa Timur.

Kode Isolat	Morfologi koloni	Gambaran mikroskopik	Strain/ Galur
FMC2	Koloni berwarna hijau tua	Hifa bersepta dan bercabang. Konidia seperti rantai, terlepas atau menyebar	<i>Aspergillus fumigatus</i>
FMC6	Koloni berwarna putih, berubah menjadi hitam.	Konidiospora tidak bercabang Kepala konidia biserial, tersusun radier.	<i>Aspergillus niger</i>



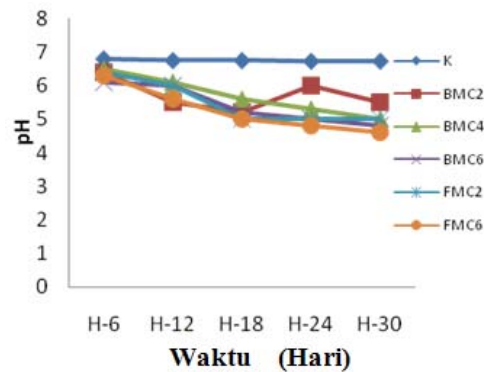
Gambar 4. Kemampuan isolat terpilih dalam mendegradasi minyak bumi (TPH) dari isolat *Bacillus cereus* (BMC2), *Bacillus sp* (BMC4), *Pseudomonas sp* (BMC6), *Aspergillus Fumigatus* (FMC2), dan *Aspergillus niger* (FMC6).

Isolat bakteri yang diinokulasipada medium *MSM* menunjukkan adanya peningkatan kekeruhan. Hal ini dilihat dengan meningkatnya nilai hasil pengukuran Kerapatan Optik (*OD*) pada panjang gelombang 600 nm menggunakan spektrofotometer seperti terlihat pada Gambar 5. Peningkatan nilai *OD* pada tiap sampel mengindikasikan adanya pertumbuhan bakteri pada media *MSM* cair yang telah ditambahkan *crude oil*.



Gambar 5. Kurva pertumbuhan isolat terpilih bakteri dalam medium *MSM* yang mengandung 1% *crude oil*, yaitu Isolat *Bacillus Cereus* (BMC2), *Bacillus sp* (BMC4), dan *Pseudomonas sp* (BMC6).

Gambar 6 menunjukkan hasil pengamatan perubahan pH media. Biodegradasi senyawa hidrokarbon oleh mikroba akan menghasilkan produk berupa asam organik yang dapat menurunkan pH media. Besarnya penurunan pH bergantung pada besarnya prosentase degradasi, semakin besar aktivitas mikroba pendegradasi, semakin besar pula penurunan pH yang dihasilkan. Kecenderungan penurunan pH teramati pada setiap sampel dengan nilai penurunan yang hampir sama. Penurunan tersebut menunjukkan bahwa akumulasi asam-asam organik sebagai hasil akhir metabolisme meningkat seiring dengan bertambahnya waktu inkubasi [9].



Gambar 6. Perubahan pH medium *MSM* selama penyimpanan setelah diinokulasi isolat terpilih mikroba pendegradasi hidrokarbon, yaitu Isolat *Bacillus cereus* (BMC2), Isolat *Bacillus sp* (BMC4), Isolat *Pseudomonas sp* (BMC6), Isolat *Aspergillus fumigatus* (FMC2), dan Isolat *Aspergillus niger* (FMC6).

Tiga (3) isolat bakteri dan dua (2) kapang terpilih yang diinokulasikan dalam bahan pembawa (*carrier*) kompos iradiasi yang mengandung 5% *crude oil* dan disimpan pada suhu ruang memiliki viabilitas yang cukup baik hingga minggu Ke-2. Populasi awal kultur isolat-isolat tersebut berkisar $6,1 \times 10^7$ - $9,4 \times 10^{12}$ *colony forming unit (cfu)* per gram bahan pembawa. Setelah penyimpanan, populasi kultur isolat tersebut stabil maupun sedikit menurun pada kisaran $4,2 \times 10^8$ - $2,6 \times 10^{13}$ *cfu* per gram (Tabel 3). Kultur isolat *Pseudomonas sp* (BMC6) memiliki viabilitas yang paling baik pada bahan pembawa kompos iradiasi setelah penyimpanan hingga minggu ke-2 dibandingkan dengan isolat-isolat lainnya. Hal ini disebabkan karena laju pertumbuhan isolat *Pseudomonas sp* (BMC6) lebih tinggi dibandingkan isolat lainnya. Populasi kultur awal isolat *Pseudomonas sp* (BMC6) yang diinokulasi pada bahan pembawa kompos iradiasi adalah $9,4 \times 10^{12}$ *cfu/g* menjadi $2,6 \times 10^{13}$ *cfu/g*.

Tabel 3. Viabilitas isolat terpilih mikroba pendegradasi hidrokarbon selama penyimpanan dalam bahan pembawa kompos iradiasi.

No	Nama Isolat	Viabilitas (<i>cfu/gr</i>)		
		0 hari	7 hari	14 hari
1	<i>Bacillus cereus</i> (BMC2)	$2,4 \times 10^{12}$	$3,5 \times 10^{12}$	$3,1 \times 10^{12}$
2	<i>Bacillus sp</i> (BMC4)	$6,5 \times 10^{12}$	$6,0 \times 10^{12}$	$4,7 \times 10^{12}$
3	<i>Pseudomonas sp</i> (BMC6)	$9,4 \times 10^{12}$	70×10^{12}	$2,6 \times 10^{13}$
4	<i>Aspergillus fumigatus</i> (FMC2)	$6,1 \times 10^7$	$6,8 \times 10^7$	$6,2 \times 10^7$
5	<i>Aspergillus niger</i> (FMC6)	$3,9 \times 10^8$	$4,5 \times 10^8$	$4,2 \times 10^8$

Hasil uji kemampuan empat macam formula konsorsia mikroba dalam mendegradasi hidrokarbon menunjukkan, bahwa Konsorsia III (*Pseudomonas sp*, BMC6, *Bacillus cereus*, BMC2, dan *Aspergillus niger*, FMC6), mampu mendegradasi minyak bumi dalam prosentase tertinggi yaitu 89,10% pada minggu ke-5 waktu inkubasi dibandingkan Konsorsia I (*Pseudomonas sp* BMC6, *Bacillus sp* BMC4, dan *Aspergillus fumigatus*, FMC2), II (*Pseudomonas sp*, BMC6; *Bacillus sp*, BMC4; dan *Aspergillus fumigatus*, FMC2), dan IV (*Bacillus sphaericus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Aspergillus niger*, FMC6) sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 4. Jenis mikroba penyusun konsorsium dan waktu inkubasi berpengaruh terhadap kemampuan degradasi hidrokarbon.

Hal ini disebabkan karena dalam keadaan bersama di antara isolat terjadi kerjasama sinergisme untuk menghasilkan enzim yang dapat memecah struktur hidrokarbon. Kemungkinan lain adalah disebabkan karena isolat konsorsium menghasilkan

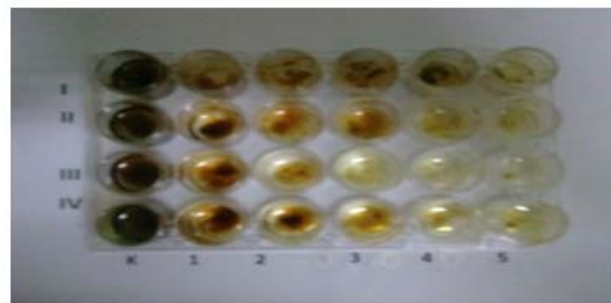
enzim yang lebih bervariasi dalam jenis dan tingkat penguraian serta jumlah yang lebih banyak dibanding dengan isolat tunggal. Adanya variasi tingkat penguraian (daya katalis) dan jumlah enzim yang lebih banyak akan menyebabkan penguraian minyak lebih cepat [10, 11].

Hasil penelitian Mukred dan Eris [12, 13], pada skala laboratorium dengan menggunakan slurry bioreaktor 500 ml menunjukkan bahwa hidrokarbon pada limbah minyak diesel dapat terdegradasi secara optimal hingga sebesar 85.29% pada kombinasi perlakuan 9.09% tingkat cemaran dalam tanah dan 32.62% padatan. Perlakuan optimal dari hasil penelitian skala laboratorium yang dikembangkan pada skala 16 liter diperoleh hasil bahwa dengan penambahan konsorsium bakteri *Pseudomonas pseudomallei* dan *Enterobacter agglomerans* serta kotoran hewan, hidrokarbon dalam limbah minyak diesel mampu terdegradasi hingga 91.6% selama 20 hari.

Tabel 4. Penurunan presentasi minyak terdegradasi (% TPH) dari 4 (empat) konsorsia mikroba terpilih.

No	Formulasi konsorsia mikroba	Penurunan TPH (%)				
		Waktu inkubasi (Minggu)				
		1	2	3	4	5
1	Konsorsia Mikroba I	7,2 ± 0,3 ^a	15,2 ± 0,4	26,4 ± 0,3	45,6 ± 0,6	67,2 ± 0,1
2	Konsorsia Mikroba II	9,8 ± 0,5	16,8 ± 0,3	27,3 ± 0,1	48,8 ± 0,3	73,2 ± 0,3
3	Konsorsia Mikroba III	10,4 ± 0,3	18,8 ± 0,4	38,8 ± 0,3	50,6 ± 0,4	89,1 ± 0,2
4	Konsorsia Mikroba IV	9,1 ± 0,3	17,6 ± 0,2	36,4 ± 0,4	51,2 ± 0,3	78,5 ± 0,4

Keterangan : a = Standar deviasi berdasarkan nilai dari tiga kali ulangan.



Waktu (Minggu)

Gambar 8. Hasil pengujian empat (4) jenis konsorsia mikroba terpilih pendegradasi hidrokarbon terhadap penurunan persentasi minyak terdegradasi (%TPH) selama inkubasi 5 minggu.

Keterangan :

- I : Konsorsia isolat mikroba (*Bacillus cereus* BMC2, *Bacillus sp* BMC4, dan *Aspergillus fumigatus* FMC2)
- II : Konsorsia isolat mikroba (*Pseudomonas sp* BMC6, *Bacillus sp* BMC4, dan *Aspergillus fumigatus* (FMC2)
- III : Konsorsia isolat mikroba (*Pseudomonas sp* BMC6, *Bacillus cereus* BMC2, dan *Aspergillus niger* FMC6)
- IV : Konsorsia isolat mikroba (*Bacillus sphaericus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Aspergillus niger* FMC6)

KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan hasil seleksi dan identifikasi mikroba yang diisolasi dari lahan tercemar minyak bumi, diperoleh 3 isolat bakteri dan 2 isolat kapang yang berpotensi sebagai pendegradasi hidrokarbon, yaitu *Bacillus cereus* (BMC2), *Bacillus* sp (BMC4), dan *Pseudomonas* sp (BMC6). Sedangkan dua (2) isolat kapang adalah *Aspergillus fumigatus* (FMC2) dan *Aspergillus niger* (FMC6). Semua Isolat terpilih mempunyai kemampuan pertumbuhan yang baik dalam media yang mengandung minyak bumi disertai penurunan pH medium. Kemampuan penurunan TPH setelah hari ke- 30 dari masing -masing isolat *Bacillus cereus* (BMC2), Isolat *Bacillus* sp (BMC4), *Pseudomonas* sp (BMC6), *Aspergillus fumigatus* (FMC2), dan *Aspergillus niger* (FMC6) adalah sebesar 54, 61, 67, 74, dan 78 %. Hasil uji viabilitas dan stabilitas dalam bahan pembawa kompos iradiasi, menunjukkan pertumbuhan selama 14 hari penyimpanan, Dari empat(4) macam formula konsorsium inokulan yang diuji kemampuannya dalam mendegradasi hidrokarbon, Inokulan konsorsium III (BMC6, BMC2, dan FMC 6) merupakan konsorsia terbaik dalam menurunkan presentasi minyak terdegradasi (%TPH) yaitu sebesar 89,1% pada minggu ke-5.

SARAN

Perlu pengembangan lebih lanjut penggunaan konsorsia mikroba yang unggul untuk diaplikasikan di lingkungan tercemar minyak bumi

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih pada Sdr. Arief Ardhari dan Bpk. Marwadi yang telah membantu dalam menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Udiharto, M., *Bioremediasi Minyak Bumi. Di Dalam: Peranan Bioremediasi dalam Pengelolaan Lingkungan*, Prosiding Pelatihan dan Lokakarya; Cibinong 24- 28Juni1996, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia : 24-39, 1996.
2. KEMENTERIAN LINGKUNGAN HIDUP REPUBLIK INDONESIA., Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup Nomor 128 Tahun 2003 Tentang Tatacara dan Persyaratan Teknis Pengolahan Limbah Minyak Bumi dan Tanah Terkontaminasi Limbah Minyak Bumi Secara
- Biologis, Jakarta: Departemen Lingkungan Hidup, 2003.
3. Onifade, A.K., Abubakar.,F.A and Ekundayo, F.O., *Bioremediation of Crude oil Polluted Soil in the Niger Delta area of Nigeria Using Enhanced Natural Attenuation*, Research Journal of Applied Sciences 2 (4): 498-504, 2007.
4. Leahly Jg, Colwell Rr., *Microbial Degradation of Hydrocarbon in The Environment*, Micro biological Reviews. 54 (3): 305-315, 1990.
5. Rengatavasi, T., Singaram, J., Tangavel., B and Ibrahim, M.B, *Effect of Salinity, Temperature, pH, and Crude Oil Concentration on Biodegradation of Crude Oil by Pseudomonas Aeruginosa*, Journal.Biol.Envirion.Sci. 1(2): 51-57, 2007.
6. Carvalho, C, and DA Fonseca, MR., *Degradation of Hydrocarbons and Alkohols at Different Temperatures and Salinities by Rhodococcus Erythropolis DCL14*, FEMS Microbiology Ecology. 51 : 389-399, 2005.
7. Capelly, Sm, Busalmen, JP and DE Sanchez, SR., *Hydrocarbon Bioremediation of A Mineral Base Contaminated Waste From Crude Oil Extraction by Indigenous Bacteria.Int.Bio-deterior*, Biodegrad. 47: 1007-1019, 2001.
8. D.H. Bergeys and John.G. Holt, *Bergey's manual of Determinative Bacteriology*, Williams & Wilkins. Baltimore USA, 1994.
9. Ijah, U.J.J. and Ukpe, L.I., *Biodegradation of crude oil by Bacillus strains 28A and 61B Isolated From Oil Spilled Soil*, Waste Management (12), 55-60, 1992.
10. Farinazleen Mohamad Ghazali, Raja Noor Zaliha Abdurahman, and Abu Bakar Salleh Mahiran Basri, *Biodegradation of Hydrocarbons in Soil Bymicrobial Consortium*, International Bio-deterioration & Biodegradation 54 :61-67, 2004.
11. Ijah, U.J.J., Antai, S.P., *Remova of Nigerian Light Crude Oil in Soil Over a 12 Month Period*, International Biodeterioration & Biodegradation 51, 93-99, 2003.
12. Mukred,A.M, Hamid, A, Hamza, A, and Yusoff. WM., *Development of Three Bacteria Consortium for the Bioremediation of Crude Petroleum Oil in Contaminated Water*, J. Biol. Sci. 8: 73-79, 2008.
13. Eris, FR., *Pengembangan Teknik Bioremediasi Dengan Slurry Bioreaktor untuk TanahTercemar Minyak Diesel*, Pascasarjana IPB: 34-40, 2006.

TANYA JAWAB**Gede SW.**

- Dimana terjadinya proses degradasi minyak bumi di dalam bakteri/kapang.
- Bagaimana mekanismenya.

Dadang Sudrajat

- *Proses terjadinya degradasi minyak bumi didalam bakteri/kapang merupakan hasil aktivitas enzimatis dari bakteri/kapang. Enzim dari bakteri/kapang memecah rantai hidrokarbon dari limbah minyak bumi sehingga menjadi senyawa yang sederhana yang tidak toksit.*
- *Mekanisme reaksinya enzimatis dapat memecah rantai aromatik, siklik dari limbah minyak bumi.*

Hendris Wongso

- Kenapa hanya bakteri dan jamur yang teridentifikasi saja yang digunakan/diuji kemampuan menurunkan TPH? Bagaimana dengan spesies yang teridentifikasi?

Dadang Sudrajat

- *Semua isolate yang tumbuh diuji kemampuan degradasi penurunan TPHnya dalam medium MSM yang mengandung 1% crude oil. Hanya isolate yang potensial dalam menurunkan TPH, yang dilakukan identifikasi untuk bakteri : isolate BMC2 (*Bacillus cereus*), BMC4 (*Bacillus sp*), dan BMC6 (*Pseudomonas sp*). Kapang : FMC2 (*Aspergillus fumigatus*), FMC6 (*Aspergillus niger*).*