

BIOREMEDIASI HIDROKARBON MINYAK BUMI MENGUNAKAN ISOLAT INDIGENOUS

Rofiq Sunaryanto

Pusat Teknologi Bioindustri, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi
Gd.611 Laptiab BPPT, PUSPIPTEK Setu, Tangerang Selatan, Banten 15314
Email: rofiqsn@gmail.com

ABSTRAK

Penentuan pengaruh konsentrasi minyak bumi dan jumlah sel *Bacillus* sp dalam proses bioremediasi minyak bumi telah dilakukan. Bioremediasi minyak bumi dilakukan dengan menggunakan kultur cair *Bacillus* sp secara batch dengan menggunakan flask 500mL. Konsentrasi hidrokarbon minyak bumi sebagai media sumber karbon digunakan sebagai variable perlakuan dengan perlakuan konsentrasi media awal 1000ppm, 3000ppm, dan 5000ppm. Pengaruh jumlah sel *Bacillus* sp dilakukan dengan menambahkan isolate *Bacillus* sp dengan kerapatan sel 5×10^4 . Perlakuan penambahan volume kultur isolat *Bacillus* sp dilakukan pada volume 1 mL, 2mL, 4 mL, 6mL, dan 8 mL. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Bacillus* sp mampu mendegradasi minyak bumi dalam beberapa konsentrasi minyak bumi dan beberapa penambahan volume sel isolat. Kecepatan degradasi minyak bumi dipengaruhi oleh konsentrasi awal minyak bumi dan jumlah sel *Bacillus* sp yang ditambahkan. Semakin tinggi konsentrasi awal minyak bumi semakin lama proses degradasinya, dan semakin tinggi jumlah sel yang ditambahkan semakin cepat proses degradasinya.

Kata kunci: Bioremediasi, minyak bumi, *Bacillus* sp, jumlah sel.

Pendahuluan

Sampai saat ini minyak bumi masih menjadi sumber energi utama yang dibutuhkan penduduk dunia, walaupun usaha untuk menggantikan minyak bumi sebagai sumber energi terus dilakukan. Sumber energi alternative seperti solar cell sumber energi dari microalga, hydrogen, dan dari tanaman seperti minyak kelapa sawit, minyak jarak belum dapat menggantikan peran minyak bumi sepenuhnya sebagai sumber energi utama. Hal ini mendorong perkembangan industri pengilangan minyak bumi untuk meningkatkan kegiatan eksplorasi, transportasi dan proses pengolahan minyak bumi.

Sejalan dengan kegiatan eksplorasi minyak bumi yang terus dilakukan, pencemaran lingkunganpun terus terjadi. Diantaranya kebocoran sistem penyimpanan minyak bumi, pembuangan limbah dari kegiatan industri, dan rembesan dari sumbernya (Shailubhai, 1986). Pencemaran minyak dapat menimbulkan masalah cukup serius terhadap ekosistem pantai, sungai, darat dan lingkungan dekat eksplorasi minyak. Menyebabkan keracunan pada makhluk hidup, mengganggu penyerapan cahaya untuk fotosintesis tanaman air dan mempengaruhi keseimbangan ekosistem sekitar (Jusfah, 1995). Sehingga penting untuk untuk mendapatkan metode penanggulangan cemaran lingkungan yang tepat, cepat, efektif, dan tidak mengganggu lingkungan.

Saat ini sudah banyak metode yang dapat dilakukan untuk menanggulangi pencemaran minyak bumi. Secara garis besar dapat dilakukan dengan cara fisika, kimia, dan biologi (Udiharto, 1992). Penanggulangan secara fisika, biasanya digunakan untuk penanganan awal atau *pre-treatment*. Cara ini digunakan untuk mengisolasi secara cepat sebelum minyak tersebut menyebar. Penanggulangan secara kimia dapat dilakukan dengan menggunakan dispersan. Sehingga minyak tersebut dapat terdispersi (Doerffer, 1992). Metode fisik dan kimia masih dirasa mahal dalam pengoperasiannya serta dapat mengganggu kehidupan di lingkungan tersebut dan sifafiya tidak mendaur. Penanggulangan secara biologi merupakan alternatif untuk mengatasi limbah minyak bumi, tanpa merusak lingkungan dengan memanfaatkan mikroorganisme pendegradasi (Udiharto, 1999). Penanganan biologi salah satunya dapat dilakukan secara mikrobiologi yang dikenal dengan istilah

bioremediasi. Bioremediasi merupakan teknologi ramah lingkungan, cukup efektif, efisien dan ekonomis.

Dalam melaksanakan penanganan pencemaran yang disebabkan hidrokarbon minyak bumi secara biologi diperlukan mikroba yang secara aktif mampu mendegradasi hidrokarbon minyak bumi. Untuk itu, perlu dilakukan pencarian mikroba yang mampu mendegradasi minyak bumi dan mengkondisikan kehidupan mikroba tersebut di lingkungan minyak bumi. Mikroba yang banyak hidup dan berperan di lingkungan hidrokarbon sebagian besar adalah bakteri (Kadarwati *et al.* 1994) dan kapang (Yuliar 1995). Bakteri yang dominan dalam mendegradasi hidrokarbon aromatik seperti fenol adalah spesies *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Acinobacter*, *Arthobacter*, *Bacillus* (Alexander 1977). Menurut hasil penelitian dari lapangan minyak Cepu, Cirebon, Rantau dan Prabumulih diperoleh isolat unggul yaitu *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus coagulans* (Anonim 1995). Biodegradasi minyak bumi dipengaruhi oleh nutrien, oksigen, pH, temperatur dan karakteristik tanah (Margesin dan Schinner 1997).

Minyak bumi disusun oleh karbon sekitar 85% dan hidrogen 12% (hidrokarbon) serta 1-5% unsur nitrogen, fosfor, sulfur, oksigen serta unsur logam (Koesoemadinata, 1980). Senyawa hidrokarbon yang merupakan komponen terbesar pembentuk minyak bumi digunakan sebagai sumber karbon oleh beberapa mikroorganisme tertentu, sedangkan senyawa non-hidrokarbon merupakan nutrisi pelengkap bagi pertumbuhannya, sehingga dapat melakukan metabolisme secara balk. Sebagai hasil proses tersebut terhadap minyak bumi adalah terjadinya degradasi atau pemutusan rantai hidrokarbon yang biasa disebut biodegradasi hidrokarbon minyak bumi (Udiharto, 1999).

Penelitian-penelitian yang telah dilakukan ditemukan beberapa mikroorganisme yang dapat mendegradasi minyak buangan. Bosser dan Bartha (1984) *cit* Yojana (1995), menemukan genus bakteri yang dapat hidup di lingkungan minyak bumi. Bakteri yang mendominasi yaitu dari genus *Alcaligenes*, *Arthr-obacter*, *Acinetobacter*, *Nocardia*, *Achrornobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, dan *Pseudomona.s*. Penelitian Yojana (1995) menemukan isolat bakteri pendegradasi minyak bumi dari tumpahan minyak di pelabuhan Dumai yaitu *Bacillus* sp, *Enterobacter aerogene.s*, *Pseudomona.s chlororaphi.s*, *Rothia dentocuriosa*, *Cor]mebacterium sp*. Penelitian Linda (1995) menemukan isolat bakteri pendegradasi dari sumur minyak bumi yaitu *Aeromonas* sp, *Alcaligenes .sp*, *Bacillus substidi.s*, *Bacillus antraci.s*, dan *E nterobacter aerogenes*.

Proses biologis melalui biodegradasi berpotensi untuk pengolahan limbah kontaminasi minyak mentah. Pengoptimalisasian proses biodegradasi ini dapat dilakukan dengan pengkondisian faktor lingkungan, seperti pemberian nutrisi, pemberian aerasi, serta bakteri yang dapat mendegradasi hidrokarbon minyak bum, sehingga dapat dilihat kemampuan dari bakteri pendegradasi tersebut. Oleh karena itu diperlukan adanya uji coba skala laboratorium untuk mengidentifikasi jenis jenis bakteri pendegradasi hidrokarbon minyak bumi dan menentukan kemampuannya.

Lingkungan secara alamiah mengandung beraneka macam mikroorganisme yang dapat dimanfaatkan dalam penanganan pencemaran lingkungan. menurut Schlegel & Schmidt (1994), bakteri pendegradasi minyak bumi tersebar luas, tidak hanya di lingkungan yang bersinggungan langsung dengan minyak bumi, tetapi bakteri ini dapat diisolasi juga dari semua tanah hutan, lading, dan rerumputan.

Bioremediasi merupakan teknologi aplikasi dari prinsip-prinsip untuk membersihkan lingkungan dari kontaminasi bahan-bahan kimia berbahaya (Cookson, 1995). Teknologi ini memanfaatkan aspek biologis seperti mikroorganisme, enzim mikroorganisme, tumbuhan dan enzim tumbuhan. Dunia yang lebih peduli akan pelestarian fungsi lingkungan yang berkelanjutan, bioremediasi ini akan lebih berperan (Annonim, 1990).

Bioremediasi merupakan proses yang melibatkan mikroorganisme untuk mengubah molekul polutan organik menjadi senyawa yang tidak berbahaya lagi bagi lingkungan dan makhluk hidup. Saat bioremediasi terjadi, enzim-enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme memodifikasi polutan beracun dengan mengubah struktur kimia polutan tersebut, sebuah peristiwa yang disebut biotransformasi. Pada banyak kasus, biotransformasi berujung pada biodegradasi, dimana polutan beracun terdegradasi, strukturnya menjadi tidak kompleks, dan akhirnya menjadi metabolit yang tidak berbahaya dan tidak beracun.

Di negara maju, teknologi ini telah digunakan untuk mengatasi berbagai masalah pencemaran lingkungan secara intensif. Dipilihnya bioremediasi sebagai teknologi remediasi unggulan, karena

teknologi ini memiliki beberapa keuntungan dan dapat menyelesaikan permasalahan pencemaran secara murah dan tuntas. Adapun tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan informasi tentang kemampuan dan profil *Bacillus* sp dalam mendegradasi minyak bumi.

Metodologi penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium mikrobiologi Balai Bioteknologi BPPT. Isolat yang digunakan untuk degradasi minyak bumi adalah *Bacillus* sp. yang diperoleh dari kultur koleksi laboratorium mikrobiologi Balai Bioteknologi BPPT. Minyak bumi yang digunakan untuk uji degradasi ini digunakan sampel yang diperoleh dari Pusat Pendidikan dan Pelatihan Minyak dan Gas Cepu-Jawa Tengah. Air laut yang digunakan adalah air laut yang diperoleh dari SeaWorld PT. Pembangunan Jaya Ancol yang telah disaring menggunakan filter cartridge 0.2 µm.

Peremajaan isolat

Bacillus sp. yang telah disimpan dalam bentuk gliserol stock diremajakan dalam media marine agar dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam. Koloni yang tumbuh dikulturkan dalam media marine broth dengan cara memindahkan koloni dalam media agar ke media marine broth yang telah disterilisasi. Selanjutnya diinkubasi selama 48 jam. Sel *Bacillus* sp yang tumbuh dalam kultur marine broth dihitung jumlah sel/ml menggunakan metode pengenceran dan disebar dalam media marine agar. Jumlah koloni yang tumbuh dihitung dalam setiap milliliter sample. *Colony Form Unit* (CFU) ditentukan. Setelah ditentukan jumlah sel/mL dalam kultur marine broth, cairan fermentasi ini siap digunakan untuk studi lebih lanjut.

Pengujian degradasi minyak bumi

Pengujian degradasi minyak bumi dihitung berdasarkan penurunan nilai TPH (*Total Petroleum Hydrocarbon*). Sebanyak 100mL air laut yang telah disaring dimasukkan kedalam erlemeyer volume 500mL. Hal yang sama dilakukan untuk sejumlah perlakuan yang digunakan. Selanjutnya setiap Erlenmeyer dimasukkan sejumlah minyak bumi yang telah diencerkan sesuai dengan variable kontaminan (5000 mg/L, 3000 mL, dan 1000mg/mL). Selanjutnya masing-masing variable perlakuan ini ditambahkan kultur isolat *Bacillus* sp. yang telah dihitung jumlahnya dengan perlakuan volume penambahan kultur sebanyak 1mL, 2mL, 4mL, 6mL, 8mL. Selanjutnya diinkubasi dalam suhu 30°C selama 40 hari. Pengambilan sampel dilakukan setiap 5 hari dan diukur konsentrasi TPH-nya.

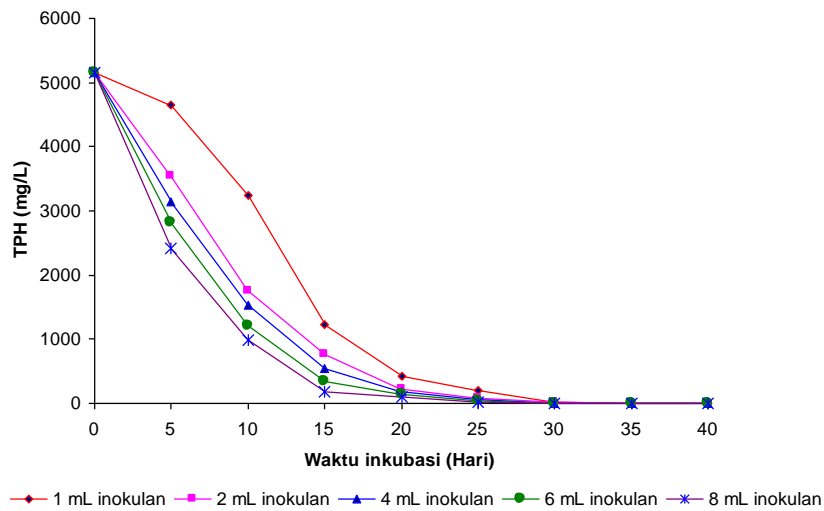
Penentuan jumlah sel isolat *Bacillus* sp.

Pada proses pengujian degradasi minyak bumi, maka secara bersamaan dilakukan penghitungan jumlah sel dalam interval waktu yang telah ditentukan. Penghitungan jumlah sel dilakukan dengan metode pengenceran, dan penghitungan koloni dalam media marine agar. Sebanyak 1mL sampel kultur isolat diambil dan diencerkan secara bertingkat dari 10^{-1} sampai dengan 10^{-7} . Masing-masing pengenceran diamati dan dipilih jumlah koloni yang tumbuh dalam rentang 30-300 koloni per plate, dan jumlah sel/mL dapat dihitung.

Hasil dan pembahasan

Biodegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi

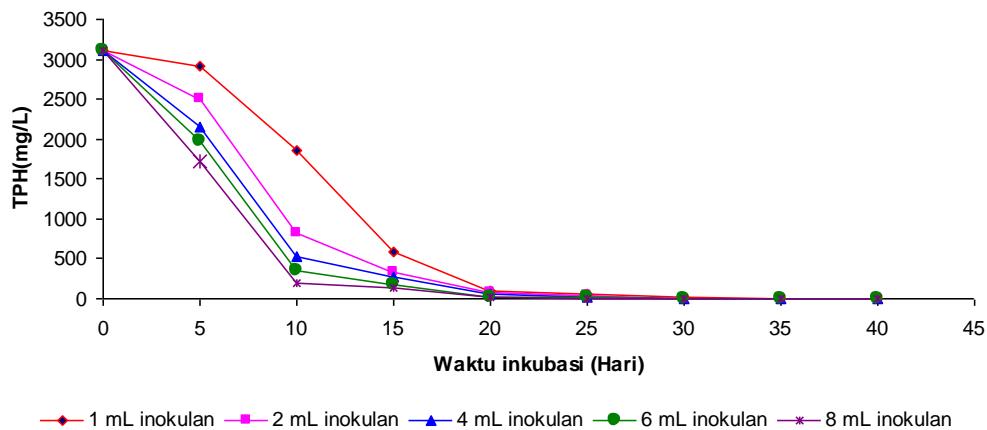
Biodegradasi hidrokarbon minyak bumi dilakukan dengan menambahkan sejumlah isolat *Bacillus* sp dalam larutan minyak bumi dalam air laut. Sebelum dilakukan uji degradasi minyak bumi maka dilakukan perhitungan jumlah sel inokulan *Bacillus* sp. Dari hasil perhitungan broth kultur *Bacillus* sp yang digunakan dalam percobaan selanjutnya adalah sebesar 5×10^4 sel/mL. Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah degradasi minyak bumi yang digambarkan dengan penurunan konsentrasi TPH dan profil pertumbuhan isolat *Bacillus* sp. Adapun konsentrasi minyak bumi dalam penelitian ini digunakan variabel perlakuan 5000ppm, 3000ppm, dan 1000ppm. Hasil percobaan degradasi minyak bumi dengan konsentrasi awal 5000ppm minyak bumi disajikan dalam Gambar 1.



Gambar 1. Profil degradasi minyak bumi pada konsentrasi awal 5000ppm

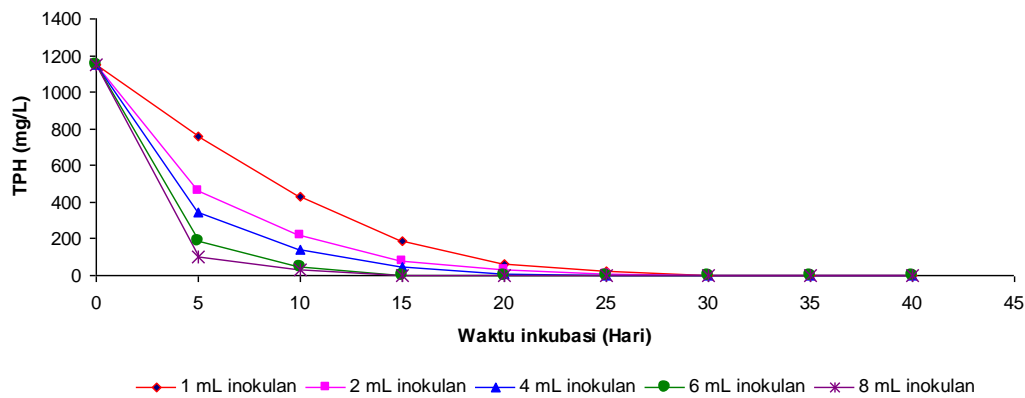
Gambar 1 menunjukkan bahwa penambahan inokulan isolat *Bacillus* sp dari 1mL sampai dengan 8mL mampu menurunkan kadar minyak bumi. Hal ini terlihat pada pengamatan sampai dengan waktu 30 hari rata-rata kadar TPH dalam larutan sampel menunjukkan konsentrasi dibawah 10ppm. Semakin besar volume inokulan yang ditambahkan semakin cepat proses degradasinya. Hal ini terlihat dari kurva degradasi Gambar 1 pada penambahan inokulan 1 mL pada jam yang sama konsentrasi TPH lebih tinggi dibandingkan dengan penamahan volume inokulan di atasnya.

Percobaan selanjutnya dilakukan pengurangan konsentrasi kontaminan minyak bumi menjadi 3000ppm. Hasil percobaan degradasi minyak bumi dengan konsentrasi awal 3000ppm minyak bumi disajikan dalam Gambar 2.



Gambar 2. Profil degradasi minyak bumi pada konsentrasi awal 3000ppm

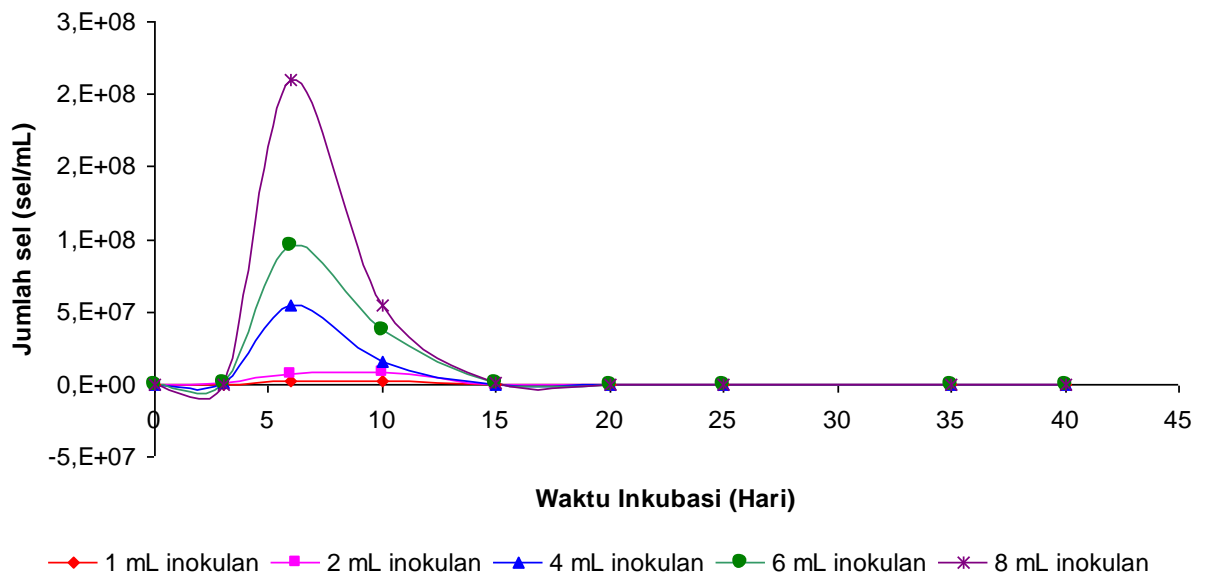
Gambar 2 menunjukkan bahwa kecepatan degradasi minyak bumi dengan konsentrasi awal 3000ppm rata lebih cepat dibandingkan dengan konsentrasi awal minyak bumi 5000ppm. Terlihat pada inkubasi 25 hari konsentrasi TPH menunjukkan rata-rata dibawah 10ppm. Seperti halnya dalam percobaan sebelumnya penambahan jumlah volume inokulan juga berpengaruh terhadap kecepatan degradasi minyak bumi. Hal yang sama ditunjukkan dalam perlakuan konsentrasi minyak bumi 1000ppm. Dari Gambar 3 terlihat bahwa degradasi minyak bumi dengan konsentrasi awal 1000ppm lebih cepat dibandingkan dengan degradasi minyak bumi 3000ppm dan 5000ppm. Degradasi minyak bumi dengan konsentrasi awal 1000ppm minyak bumi disajikan dalam Gambar 3.



Gambar 3. Profil degradasi minyak bumi pada konsentrasi awal 1000ppm

Profil pertumbuhan sel *Bacillus* sp, selama degradasi minyak bumi.

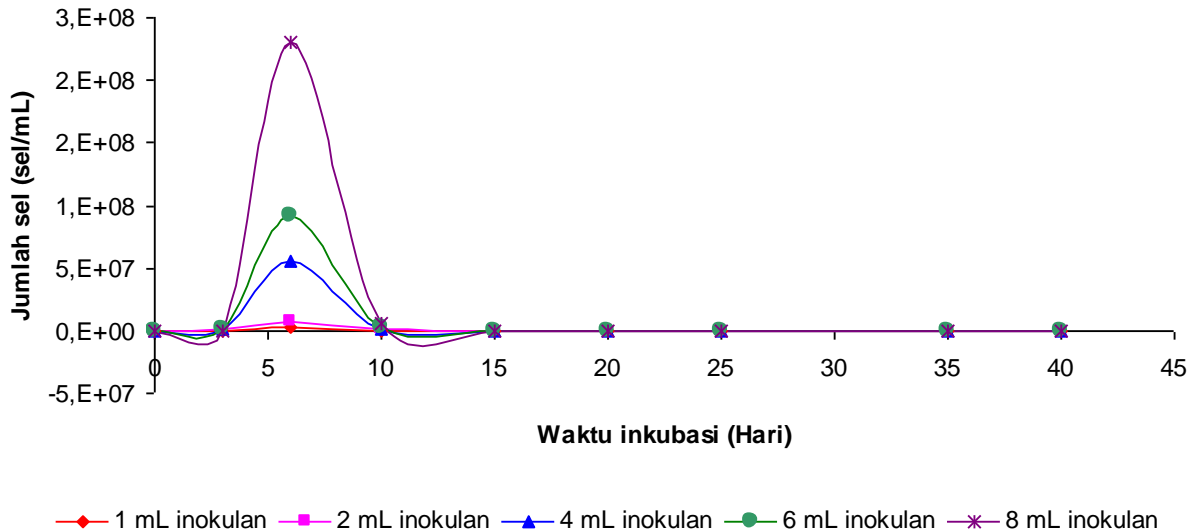
Proses degradasi minyak bumi pada percobaan sebelumnya, telah diketahui bahwa penambahan volume inokulan berpengaruh terhadap kecepatan degradasi minyak bumi. Dalam studi selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap pertumbuhan sel *Bacillus* sp. Selama proses degradasi minyak bumi. Dalam percobaan ini dilakukan pengamatan terhadap pertumbuhan sel pada masing-masing penambahan jumlah inokulan dalam setiap perlakuan konsentrasi awal minyak bumi. Profil pertumbuhan sel selama degradasi minyak bumi dengan konsentrasi awal minyak bumi 1000ppm disajikan dalam Gambar 4.



Gambar 4. Profil pertumbuhan sel *Bacillus* sp pada perlakuan konsentrasi awal minyak bumi 5000ppm.

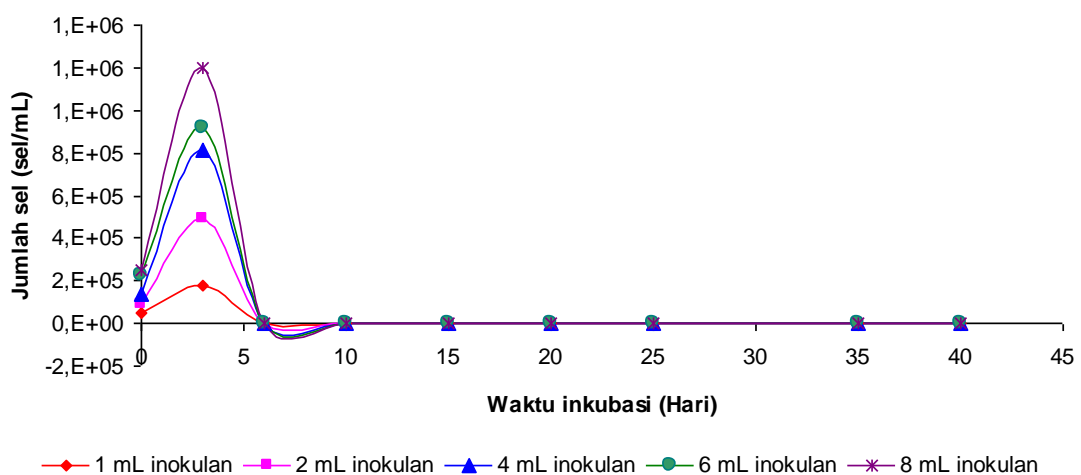
Gambar 4 menunjukkan bahwa pada perlakuan penambahan jumlah volume inokulan menghasilkan pertumbuhan jumlah sel yang lebih tinggi. Terlihat pada penambahan 1 ml inokulan jumlah sel yang terjadi masih dibawah 5×10^7 sel/mL. Dilain pihak pada penambahan inokulan 6 dan 8mL menunjukkan jumlah sel diatas 5×10^7 sel/mL. Apabila dihubungkan dengan kecepatan degradasi minyak bumi maka degradasi paling optimum terjadi setelah 6 hari, hal ini terjadi karena jumlah sel tertinggi terjadi setelah 6 hari inkubasi. Setelah diperoleh puncak pertumbuhan jumlah sel tertinggi, pertumbuhan sel mulai menurun bahkan terjadi penurunan yang drastis atau banyak terjadi lisis. Hal ini terjadi dikarenakan berkurangnya sumber karbon yang berasal dari minyak bumi.

Untuk mengetahui pengaruh jumlah inokulan terhadap pertumbuhan sel maka dilakukan pengamatan profil pertumbuhan sel *Bacillus* sp pada konsentrasi minyak bumi 3000ppm. Profil pertumbuhan sel *Bacillus* sp pada perlakuan konsentrasi awal minyak bumi 3000ppm disajikan dalam Gambar 5.



Gambar 5. Profil pertumbuhan sel *Bacillus* sp pada perlakuan konsentrasi awal minyak bumi 3000ppm

Gambar 5 menunjukkan bahwa profil pertumbuhan sel *Bacillus* sp pada perlakuan konsentrasi awal minyak bumi 3000ppm mirip dengan konsentrasi awal minyak bumi 5000ppm. Namun demikian pada konsentrasi awal minyak bumi 3000ppm titik terendah jumlah sel setelah mencapai puncak terjadi lebih awal yaitu pada hari ke-10. Berbeda halnya pada konsentrasi awal minyak bumi 5000ppm terjadi pada hari ke 15. Hal ini disebabkan ketersediaan sumber karbon dari minyak bumi pada konsentrasi awal 3000ppm lebih sedikit sehingga mempercepat proses lisis sel. Selain perlakuan konsentrasi awal minyak bumi 3000ppm dan 5000ppm juga diamati pertumbuhan sel pada konsentrasi awal minyak bumi 1000ppm. Adapun profil pertumbuhan sel *Bacillus* sp pada perlakuan konsentrasi awal minyak bumi 1000ppm disajikan dalam Gambar 6.



Gambar 6. Profil pertumbuhan sel *Bacillus* sp pada perlakuan konsentrasi awal minyak bumi 1000ppm

Gambar 6 menunjukkan bahwa profil pertumbuhan sel pada konsentrasi awal minyak bumi 1000ppm identik dengan konsentrasi awal minyak bumi 3000ppm dan 5000ppm. Namun demikian puncak jumlah sel terjadi lebih cepat yaitu pada hari ke-3. Jika dibandingkan dengan konsentrasi

minyak bumi 3000ppm dan 5000ppm jumlah sel pada titik puncak maksimum masih jauh lebih kecil yaitu sebesar 1×10^6 sel/mL. Demikian juga kematian sel terjadi lebih cepat, yaitu pada hari ke 6 jumlah sel terendah telah terjadi.

Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut:

- Isolat *Bacillus* sp mampu mendegradasi minyak bumi, dengan demikian dapat digunakan sebagai agent untuk bioremediasi minyak bumi.
- Degradasi minyak bumi dengan menggunakan isolat *Bacillus* sp dengan jumlah sel 5×10^4 sel/mL, rata-rata mampu mendegradasi minyak bumi sampai habis selama 20-35hari, tergantung dari konsentrasi awal minyak bumi dan jumlah sel *Bacillus* sp yang digunakan.
- Kecepatan degradasi minyak bumi berbanding lurus dengan jumlah sel *Bacillus* sp yang digunakan. Semakin tinggi jumlah sel yang digunakan semakin cepat degradasi minyak buminya.

Daftar pustaka

- Annonymous. 1990. Microbial Hydrocarbon Degradation. Polybac Corporation. Bethlehem. USA.
- Cookson, Jr. J.T. 1995. Bioremediation Engineering : Design and Application. McGraw-Hill, Inc. USA.
- Doerffer, J.W. 1992. Oil Spill Response in the Marine Environment. First Ed. Pergamon Press. Tokyo.
- Koesoemadinata, R. P. 1980. Geologi Minyak dan Gas Bumi. Edisi III. Jilid I. Penerbit ITB. Bandung.
- Udiharto. 1992. Aktivitas Mikroba dalam Degradasi Crude Oil. Diskusi Ilmiah VII Hasil Penelitian PPPTMGB "LEMIGAS". Jakarta.
- Udiharto. 1999. Penanganan Minyak Buangan Secara Bioteknologi. Makalah Seminar Sehari Minyak Dan Gas Bumi. LEMIGAS. Jakarta
- Cookson, Jr. J.T. 1995. Bioremediation Engineering : Design and Application. McGraw-Hill, Inc. USA.
- Linda, T.Ni. 1995. Identifikasi dan Biodegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi Dari Bakteri Hasil Isolasi Di Lingkungan Sumur Minyak. Skripsi Sarjana Biologi. FMIPA. Universitas Andalas. Padang.
- Yojana, R. N. 1995. Aktivitas Hasil Isolasi Dari Tumpahan Minyak Di Pelabuhan Dumai Dalam Biodegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi. Skripsi Sarjana Biologi. FMIPA. Universitas Andalas. Padang.
- Alexander M. 1977. Introduction to Soil Microbiology. John Willey and Sons. New York
- Anonim 1995. Karakteristik beberapa mikroba lapangan minyak Indonesia dalam perspektif MEOR. Kumpulan makalah simposium III Lemigas. Jakarta
- Bartha R, Bossert I. 1984. The treatment and disposal of petroleum wastes. Di dalam: Atlas RM, editor. Petroleum Microbiology. New York: Macmillan Publishing Co. hlm 553-577.
- Kadarwati S, Udiharto M, Legowo EH, Bagio E, Rahman M, Jasjfi E. 1994. Aktivitas Mikroba dalam Transformasi Substitusi di Lingkungan Hidrokarbon. Lembaran Publikasi Lemigas, Jakarta. 2:28-38.
- Margesin R, Schinner F. 2001. Bioremediation (Natural attenuation and biostimulation) of diesel-oil-contaminated soil in an Alpine glacier skiing area. Appl. Environ. Microbiol. 67(7):3127-3133
- Yuliar G, Kartina, Sugiarto A. 1995. Inventarisasi kapang pendegradasi petroleum. Laporan teknik penelitian, pengembangan, dan pendayagunaan biota Indonesia Pusat penelitian dan pengembangan biologi. LIPI. Bogor.
- Schlegel HG & K Schmidt. 1994. Mikrobiologi Umum. Terjemahan. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.