

Isolasi dan Seleksi Bakteri Pendegradasi Solar Dari Pelabuhan Penyeberangan Kendari – Wawonii, Sulawesi Tenggara

M. Rajab Sutra Mijaya ⁽¹⁾, Nur Arfa Yanti ⁽¹⁾, Ardiansyah ⁽¹⁾, Nurhayani H.M ⁽²⁾

⁽¹⁾ Program Studi Biologi, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Halu Oleo, Kendari

⁽²⁾ Jurusan Biologi, Universitas Negeri Makassar

Email Corresponding : ardiansyah_fmipa@uho.ac.id

Diterima : 12 Oktober 2019 – Disetujui : 05 November 2019

© 2019 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Halu Oleo Kendari

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mendegradasi solar. Penelitian ini adalah penelitian eksploratif. Isolasi bakteri menggunakan metode *enrichment* dengan media yang digunakan yaitu SMSSe yang diperkaya solar 2% (v/v). Pemilihan bakteri hidrokarbonoklastik berdasarkan kemampuan bakteri tumbuh pada media agar padat. Inokulum bakteri dibuat dalam bentuk suspensi dengan Standar Mc Farland 0,5. Pengujian kemampuan degradasi solar dilakukan menggunakan media minimal dengan variasi konsentrasi solar 1%, 2% dan 3% dan diinkubasi pada *rotary shaker*. Sampel diambil pada hari ke 1, 5, 10, 15 dan 20 untuk uji emulsi solar dengan menghitung volume solar yang teremulsi. Pertumbuhan jumlah bakteri dihitung dengan metode *Standard Plate Count*. Kadar sisa solar dihitung setiap pengambilan sampel selama inkubasi. Hasil seleksi bakteri pendegradasi solar diperoleh tiga isolat yaitu PSI.1 PSII.1 dan PSIII.2. Ketiga isolat bakteri memiliki kemampuan mendegradasi solar pada perlakuan yang berbeda, hasil terbaik dalam menurunkan kadar solar yaitu konsentrasi 3% selama 20 hari inkubasi pada isolat PSII.1 yang memiliki kemampuan tertinggi menurunkan kadar solar hingga 70,70%.

Kata kunci : Hidrokarbonoklastik, Pendegradasi, Solar

Isolation and Selection of Hydrocarbon Degrading Bacteria (Diesel) From Port Crossing Kendari - Wawonii, Southeast Sulawesi

Abstract

This study aimed to obtain the ability of bacteria to degrade diesel fuel. Method of this research was exploration method. Bacteria were isolated by enrichment method used SMSSe enriched diesel 2% (v/v). Selection of hydrocarbonoclastic bacteria based on the ability of to grow on agar medium solid. The bacteria in the test made in the form of suspension with Mc Farland Standard 0.5. Test of bacterial isolates were used 10% of the inoculum put in 150 mL media with different concentrations of diesel fuel were 1%, 2% and 3% and incubated on a rotary shaker at 120 rpm. Samples were taken on 1, 5, 10, 15 and 20 days to test diesel emulsion by centrifugation at a speed of 3500 rpm \pm 15 minutes, the comparison between the media and diesel 4:1. Growth in the amount of bacteria accounted by a *Standard Plate Count* method. The levels of the diesel rest calculated every sampling during incubation. The selection results of obtained diesel degrading bacteria isolates that PSI.1 PSII.1 and PSIII.2. All of bacteria have the ability to degrade diesel fuel in different treatment, the best result in lowered diesel fuel that were a concentration of 3% during 20 days of incubated at PSII.1 isolate, that have the highest ability to reduce levels of diesel up to 70,70%.

Keywords: Hydrocarbonoclastic, Degradation, Diesel fuels

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Salah satu beban pencemaran yang menjadi masalah besar terhadap keseimbangan lingkungan adalah limbah yang disebabkan oleh minyak bumi dan limbah lain yang juga merupakan turunan dari minyak bumi, baik yang berasal selama proses produksi, transportasi maupun akibat ceceran dan tumpahan minyak (Husnileili, 2011). Banyak cara yang dilakukan untuk mengatasi pencemaran lingkungan akibat limbah minyak bumi, salah satunya adalah dengan melibatkan agen biologis berupa mikroorganisme. Mikroorganisme memiliki kemampuan untuk mendegradasi senyawa hidrokarbon yang terdapat di dalam minyak bumi menjadi mineral-mineral yang lebih sederhana.

Solar merupakan salah satu fraksi dari minyak bumi yang diperoleh dengan cara destilasi dan dipisahkan berdasarkan titik didih dengan rantai atom karbon C₁₅-C₁₈ dan titik didihnya 300-400°C. Umumnya solar digunakan sebagai bahan bakar mesin diesel kendaraan bermotor, industri kecil, dan bahan bakar mesin diesel kapal (Pertamina, 2009).

Pembersihan tumpahan minyak bumi di laut dapat dilakukan dengan cara kimiawi yaitu dengan menggunakan bahan kimia seperti pelarut organik atau tanpa surfaktan. Campuran bahan pelarut minyak dikumpulkan dengan metode penyaringan, secara mekanik dengan menggunakan penyerap minyak yang

membantu mengubah minyak menjadi bentuk yang dapat diangkut untuk penyimpanan jangka pendek dan secara fisikokimia dengan menggunakan bahan kimia. Namun cara tersebut memberi dampak negatif yaitu mengakibatkan keracunan pada organisme air dan dapat meningkatkan biaya pemulihan. Metode lain yang dapat dipakai dalam proses pembersihan tempat yang tercemar minyak bumi adalah secara biologi yaitu biodegradasi. Metode ini lebih murah, lebih aman dan tidak menghasilkan senyawa toksik ke lingkungan (Kittel, Leeson, Hinchee, Miller, & Haas, 1994).

Salah satu cara yang dapat digunakan dalam proses biodegradasi yaitu dengan menggunakan mikroba yang dominan ditemukan pada lingkungan hidrokarbon (Bartha & Bossert, 1984). Bakteri yang memiliki kemampuan mendegradasi senyawa hidrokarbon untuk keperluan metabolisme dan perkembangbiakannya disebut bakteri hidrokarbonoklastik atau bakteri petrofilik. Bakteri hidrokarbonoklastik dapat diperoleh dengan cara mengisolasi bakteri dari tempat yang mengandung hidrokarbon.

Pelabuhan Penyeberangan Kendari – Wawonii, Sulawesi Tenggara dibangun pada tahun 1990 dan mulai beroperasi pada tahun 1995 (Anonim, 2011). Pelabuhan ini merupakan tempat aktivitas transportasi penyeberangan antar pulau, pencucian kapal serta bongkar muat barang. Kapal yang beroperasi terdiri dari

kapal Ferry dan kapal kayu yang umumnya menggunakan bahan bakar solar. Air pada pelabuhan tersebut secara visual terlihat adanya lapisan minyak pada permukaan air. Berdasarkan (Peraturan Pemerintah R.I., 2004) Tentang Baku Mutu Air Laut, lapisan minyak harus berada pada keadaan nihil dalam pengamatan oleh manusia (visual). Aktivitas transportasi yang berlangsung menyebabkan lapisan minyak yang terlihat akibat aktivitas transportasi yang berlangsung terus-menerus memungkinkan pertumbuhan bakteri hidrokarbonoklastik.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September – November 2016 di Pelabuhan Penyeberangan Kendari – Wawonii, Sulawesi Tenggara dan dilanjutkan di Laboratorium Unit Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Halu Oleo (UHO), Kendari, Sulawesi Tenggara.

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini autoklaf, sentrifuge, mikropipet, cawan petri, inkubator, *laminar air flow*, Bunsen, ose dan mikroskop. Bahan-bahan yang digunakan meliputi tanah air laut, solar, media SMSSe, kapas, *plastic wrap*, NaCl fisiologis 0,85%, *aluminium foil*, larutan safranin, larutan iodine, dan larutan kristal violet.

Prosedur Kerja

Sterilisasi alat dan media

Alat dan bahan yang digunakan terlebih dahulu disterilkan, dengan metode sterilisasi basah. Sterilisasi dengan pemijaran digunakan untuk sterilisasi ose. Sterilisasi alat menggunakan autoklaf bertekanan 1 atm 121°C, selama 30 menit. Alat-alat yang disterilkan umumnya terbuat dari gelas. Sterilisasi media menggunakan autoklaf bertekanan 1 atm 121°C, selama ±15-20 menit (Lay, 1994).

Pembuatan media

Media yang digunakan dalam penelitian adalah media *Stone Mineral Salt Solution* (SMSS). Media SMSS merupakan media spesifik untuk pertumbuhan yang digunakan untuk isolasi dan uji bakteri. Komposisi media SMSS yaitu 0,5 g CaCO₃; 0,25 g NH₄NO₃; 0,1 g Na₂HPO₄.7H₂O; 0,05 g KH₂PO₄; 0,05 g; MgSO₄.7H₂O; dan *yeast extract* 0,01% (v/v). Semua bahan dilarutkan dalam 200 mL air laut steril, *yeast extract* sebanyak 0,01% (v/v) ditambahkan ke dalam medium SMSS sebagai sumber nitrogen tambahan. Medium SMSSe yang mengandung *yeast extract* ini selanjutnya disebut SMSSe untuk mempermudah penyebutannya. Medium tersebut ditambahkan solar 2% (v/v) sebagai sumber karbon, konsentrasi hidrokarbon lebih dari 3% (v/v) akan menghambat pertumbuhan bakteri. pH medium adalah 7. Setelah homogen media disterilkan dengan menggunakan autoklaf (Aditiawati, *et. al.*, 2001).

Pengambilan sumber isolat

Sumber isolat yang digunakan dalam penelitian ini adalah air laut dari Pelabuhan Penyeberangan Kendari-Wawonii, Sulawesi Tenggara. Pemilihan sumber isolat didasarkan area yang tampak lapisan minyak yang pada permukaan air. Pengambilan sampel dilakukan dengan menyiapkan botol sampel 100 mL, disterilkan dengan menggunakan autoklaf. Botol sampel dimasukkan di bawah permukaan air pada kedalaman 0-15 cm. Tutup botol dibuka di dalam air dan dibiarkan terisi air hingga penuh lalu ditutup pada posisi masih di bawah kolom air. Parameter yang diukur pada lokasi sumber isolat tersebut adalah salinitas, pH dan suhu. Selanjutnya sampel yang telah diperoleh dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi, Universitas Halu Oleo untuk diisolasi dan pengujian.

Isolasi bakteri pendegradasi solar dengan metode *enrichment*

Sampel air laut sebagai sumber isolat sebanyak 2% (v/v) dimasukkan ke dalam media SMSSe yang mengandung solar 2% (v/v) dan pH media yaitu 7 lalu diinkubasi pada *rotary shaker* dengan kecepatan 120 rpm selama 7 hari pada suhu ruang. Sampel diambil sebanyak 1 mL menggunakan mikropipet dengan *blue tip* dan dimasukkan dalam botol ampul berisi 9 mL akuades steril dan disuspensi untuk memperoleh pengenceran 10^{-1} . Hal tersebut berulang sampai pengenceran ke 10^{-3} . Isolasi bakteri menggunakan metode

tuang (*Pour Plate*) yaitu tiga pengenceran terakhir yaitu 10^{-3} , 10^{-4} dan 10^{-5} .

Pembuatan inokulum

Bakteri yang digunakan dalam pengujian dibuat dalam bentuk suspensi. Isolat diambil dengan menggunakan jarum ose sebanyak 1-2 ose biakan lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril yang telah berisi larutan NaCl fisiologis 0,85%. Campuran kemudian dihomogenkan dengan *vortex*, kekeruhan campuran dibandingkan dengan kekeruhan Standar Mc Farland 0,5. Peyetaraan konsentrasi mikroba Standar kekeruhan Mc Farland dimaksudkan untuk menggantikan perhitungan bakteri satu per satu dan untuk memperkirakan kepadatan sel (Sutton & Sutton, 2011).

Uji Isolat Bakteri Pendegradasi Solar

Media yang siap digunakan dimasukkan sebanyak 10% inokulum ke dalam media SMSSe cair 150 mL yang diinkubasi pada suhu ruang selama 20 hari di *rotary shaker* dengan kecepatan 120 rpm dan diukur perubahan pH pada media selama inkubasi 20 hari. Kemampuan isolat bakteri mendegradasi solar diamati berdasarkan emulsi solar, jumlah bakteri dan kadar sisa solar pada hari ke 0, 5, 10, 15 dan 20.

Emulsi Solar

Uji kemampuan bakteri mengemulsi senyawa hidrokarbon diamati secara kualitatif. Solar ditambahkan 1 mL ke dalam media SMSSe 4 mL yang diperoleh pada hari 0, 5, 10, 15 dan 20. Sentrifugasi pada kecepatan 3500 rpm selama ± 15

Campuran tersebut dikocok, kemudian didiamkan selama 5 menit. Tingkat kelarutan diamati secara visual dengan mengamati perubahan perbandingan volume solar dan media. Perbandingan kadar solar teremulsi dihitung dengan rumus (Aditiawati *et al.*, 2001):

$$\text{Solar Teremulsi (\%)} = \frac{V_1 - V_2}{V_1} \times 100\%$$

Keterangan: V1 = Volume awal solar sebelum perlakuan
V2 = Volume akhir solar setelah perlakuan

Jumlah Bakteri

Perhitungan jumlah bakteri dilakukan pada hari ke 0, 5, 10, 15 dan 20 dilakukan dengan *Standard Plate Count* (SPC) menggunakan *colony counter*. Sampel diambil sebanyak 1 mL menggunakan mikropipet dengan *blue tip* lalu dimasukkan ke dalam botol ampul pertama yang berisi 9 mL air laut steril untuk mendapatkan pengenceran 10^{-1} , setelah disuspensi selanjutnya dipipet sebanyak 1 mL untuk pengenceran 10^{-2} pada botol ampul kedua, hal ini terus berulang hingga pengenceran 10^{-8} . Sampel pengenceran diambil dari tiga seri pengenceran terakhir yaitu, 10^{-6} , 10^{-7} , dan 10^{-8} .

Kultur diinkubasi selama 2 hari pada suhu 32°C dan perhitungan dilakukan dengan menggunakan rumus (Fardiaz, 1992):

$$\text{Jumlah sel bakteri (CFU/mL)} = \text{Jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

$$\text{Faktor pengenceran} = \text{faktor pengencer} \times \text{volume yang ditumbuhkan}$$

Kadar sisa solar

Pengukuran kadar sisa solar dilakukan selama inkubasi pada hari ke 0, 5, 10, 15 dan 20. Media SMSS sebanyak 9 ml perlakuan 1%, 2% dan 3% + solar sebanyak 1 ml pada tabung reaksi. Kebutuhan oksigen dilakukan dengan aerasi yaitu dengan cara pengocokan dengan *shaker* (Alpentri, 1999). Selisih solar pada medium awal sebelum degradasi dan sisa solar pada tabung reaksi. Perbandingan kadar sisa solar yang terdegradasi selama inkubasi dihitung dengan rumus (Rosenberg, Rubinovitz, Gottlieb, Rosenhak, & Ron, 1988):

$$\text{Kadar Sisa Solar (\%)} = \frac{V_2}{V_1} \times 100\%$$

Keterangan: V1 = Volume awal solar sebelum perlakuan
V2 = Volume akhir solar setelah perlakuan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gambaran Umum Lokasi Penelitian

Lokasi pengambilan sampel dilakukan pada dua stasiun yang berada pada Perairan Pelabuhan Penyeberangan Kendari-Wawonii, Kendari. Lokasi stasiun tersebut berdasarkan area yang tampak lapisan minyak pada permukaan air. Stasiun I yaitu area tempat bersandarnya kapal kayu pada koordinat 3.97252°LS dan $122.57915^{\circ}\text{BT}$ dan Stasiun II tempat bersandarnya kapal Ferry pada koordinat $03.97254^{\circ}\text{LS}$ dan 122.57864° . Lokasi pengambilan sumber isolat tercantum pada.

Pengukuran Parameter Lingkungan

Pengukuran parameter lingkungan bertujuan untuk mengetahui kondisi lingkungan alami isolat bakteri. Pengukuran parameter lingkungan

dilakukan pada setiap stasiun yang meliputi suhu, pH dan salinitas sumber isolat tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengukuran suhu, pH dan salinitas sumber isolat

No	Lokasi	Suhu (°C)		pH Air Laut	Salinitas
		Air Laut	Lingkungan		
1	Stasiun I	29 °C	34,9 °C	7,2	20 ‰
2	Stasiun II	29 °C	35,8 °C	7,1	17 ‰

Hasil Isolasi Bakteri Pendegradasi Solar

Hasil isolasi bakteri pendegradasi solar dari Pelabuhan Penyeberangan Kendari-Wawonii yang telah diisolasi tercantum pada Tabel 2.

Tabel 2. Jumlah Isolat Bakteri dari Pelabuhan Penyeberangan Kendari-Wawonii, Kendari

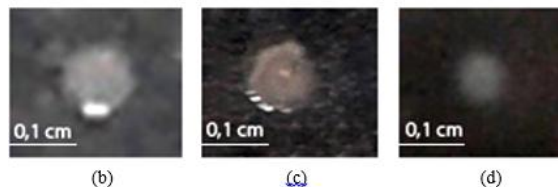
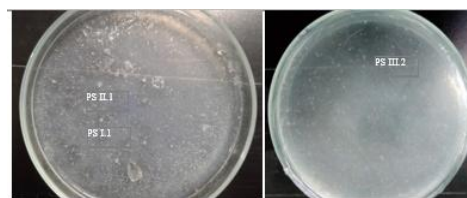
No	Sumber Isolat	Jumlah Isolat Bakteri
1	Stasiun I	2
2	Stasiun II	1
Jumlah Total Bakteri		3

Tabel 2 menunjukkan jumlah isolat bakteri yang diperoleh yaitu 3 isolat bakteri. Stasiun I diperoleh 2 isolat dan Stasiun II berjumlah 1 isolat.

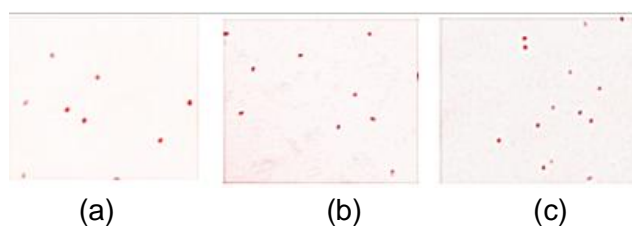
Pengamatan makroskopis diamati bentuk koloni, tepi, elevasi, dan ukuran koloni, sedangkan secara mikroskopis yaitu diamati bentuk sel dan sifat dari pewarnaan Gram. Kode isolat PSI.1 dan PSII.1 berasal dari Stasiun I dan kode isolat PSIII.2 dari Stasiun II. Hasil pengamatan karakter morfologi secara makroskopis dan mikroskopis tercantum pada Tabel 3, Gambar 1 dan Gambar 2.

Tabel 3. Morfologi isolat dari Pelabuhan Penyeberangan Kendari - Wawonii secara makroskopis dan mikroskopis

No	Kode Isolat	Bentuk Koloni	Tepi Koloni	Elevasi Koloni	Warna Koloni	Ukura Koloni (cm)	Bentuk Sel	Gram
1.	PSI.1	Circular	Entire	Convex	Putih	0,14	Coccus	Negatif
2.	PSII.1	Curled	Undulate	Raised	Krem	0,19	Coccus	Negatif
3.	PSIII.2	Circular	Entire	Effuse	Putih	0,12	Coccus	Negatif



Gambar 1. Morfologi Koloni (a) Koloni pada cawan petri (b) PSI.1, (c) PSII.1 dan (d) PSIII.2



Gambar 2. Morfologi sel perbesaran 10X40 (a) PSI.1, (b) PSII.1, (c) PSIII.2

Berdasarkan Gambar 2 dapat diketahui karakter morfologi sel ketiga isolat bakteri. Ketiga isolat bakteri PSI.1, PSII.1, PSIII.2 berbentuk *coccus* (bulat) dan Gram negatif. Menurut Volk & Wheeler, (1988), bakteri bentuk *coccus* memiliki bentuk seperti bola. Sifat Gram ketiga isolat juga sama yaitu Gram negatif. Bakteri Gram negatif adalah bakteri yang menunjukkan warna merah setelah pengecatan Gram.

Isolat Bakteri dalam Mengemulsi Hidrokarbon (Solar)

Isolat bakteri masing-masing memiliki kemampuan dalam mengemulsi solar yang bervariasi. Hasil pengukuran pada hari ke- 1, 5, 10, 15, dan 20 tercantum pada Tabel 4.

Tabel 4. Solar teremulsi (%) yang dihasilkan oleh isolat bakteri selama 20 hari inkubasi

Isolat	Perlakuan	Solar Teremulsi (%)				
		Waktu (Hari)				
		1	5	10	15	20
<i>I</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>
PSI.1	1%	3,33	5,00	8,06	8,89	9,72
	2%	3,71	6,11	6,67	8,33	8,61
	3%	3,89	6,11	6,11	17,78	21,11
PSII.1	1%	1,94	7,78	8,89	9,44	11,67
	2%	2,86	5,56	6,11	11,11	19,17
	3%	5,56	6,67	7,22	40,56	35,28
PSIII.2	1%	2,22	4,44	10,27	21,39	27,22
	2%	3,43	4,72	6,39	15,56	21,39
	3%	3,89	5,00	8,33	42,78	30,28

Data pada Tabel 4 menunjukkan bahwa perbedaan pemberian konsentrasi solar memberi pengaruh yang berbeda terhadap emulsi solar. Perlakuan 3% memiliki emulsi yang lebih besar yaitu pada PSI.1 21,11 %, PSII.1 35,28 %, dan PSIII.2 30,28 % jika dibandingkan dengan konsentrasi solar 1% dan 2%. (Moussa, Ahmed, & Abdel-hamid, 2006) menyatakan bahwa produksi biosurfaktan dengan konsentrasi hidrokarbon 3% menyebabkan kenaikan jumlah biosurfaktan namun pada konsentrasi di atas 3%, jumlah biosurfaktan menurun. Emulsi yang terjadi menunjukkan bahwa pada ketiga isolat bakteri mampu melarutkan senyawa hidrokarbon. Hal ini diduga karena bakteri menghasilkan senyawa yang dapat melarutkan hidrokarbon. Menurut Fingerman & Nagabhushanam, (2005), biosurfaktan dihasilkan oleh bakteri hidrokarbonoklastik dapat melarutkan senyawa hidrokarbon dengan membuat minyak terdispersi menjadi misel. Misel tersebut memiliki luas permukaan lebih besar sehingga memperbesar kontak permukaan antara bakteri dengan hidrokarbon. Emulsi solar pada setiap perlakuan memiliki pola yang

bervariasi, hal ini dapat disebabkan karena biosurfaktan yang dihasilkan masing-masing mikroba berbeda tergantung dari jenis mikroba dan kebutuhan nutrien yang dikonsumsinya (Rosenberg *et al.*, 1988).

Perlakuan pada setiap isolat menunjukkan bahwa, hari pertama sudah mulai terjadi emulsi solar hal ini diduga isolat bakteri yang digunakan memiliki enzim ekstraseluler emulsifikasi yang dapat menyebabkan emulsi pada hidrokarbon yang bersifat hidrofobik (Blanchard, 2008). Ron & Rosenberg, (2001) menyatakan bahwa pada awal pemberian solar ke dalam media, bakteri akan mulai meningkatkan kontak dengan solar. Pada saat meningkatkan kontak, bakteri melakukan adhesi/adsorpsi yaitu kontak antara permukaan membran sel yang bersifat hidrofobik kemudian bakteri melakukan pembelahan sel. Ketika permukaan solar menjadi jenuh oleh bakteri maka pertumbuhan bakteri dibatasi oleh ketersediaan permukaan solar, dengan keterbatasan ini, bakteri akan menggunakan solar sebagai media tumbuh dengan sebelumnya mengemulsi campuran larutan tersebut dengan mengeluarkan biosurfaktan. Emulsi oleh bakteri mengalami peningkatan secara simultan sejak awal pengamatan (Widjajanti, Muharni, & Mirfat, 2013).

Pertumbuhan jumlah isolat bakteri selama inkubasi

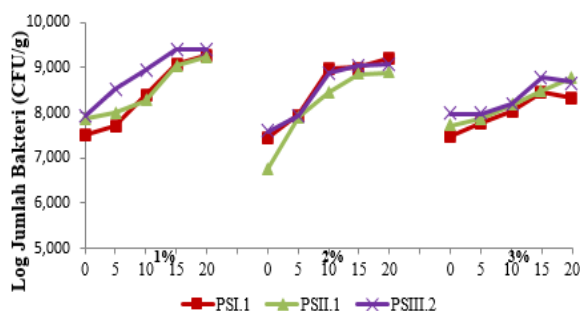
Pertumbuhan jumlah isolat bakteri selama inkubasi berdasarkan perhitungan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada

media agar SMSSe pada perlakuan konsentrasi solar yang berbeda-beda yaitu 1%, 2% dan 3% dihitung mulai dari hari ke-1, 5, 10, 15 dan 20. Pertumbuhan masing-masing isolat bakteri tercantum pada Tabel 5.

Tabel 5. Log jumlah bakteri (CFU/g) selama inkubasi dari 0 – 20 hari

Isolat	Perlakuan	Log Rata-Rata Jumlah Sel (CFU/g)				
		Waktu (Hari)				
		1	5	10	15	20
PSI.1	1%	7,505	7,708	8,398	9,079	9,279
	2%	7,447	7,954	8,987	9,000	9,204
	3%	7,491	7,771	8,041	8,447	8,322
PSII.1	1%	7,857	7,987	8,279	9,041	9,255
	2%	6,778	7,903	8,447	8,863	8,886
	3%	7,716	7,857	8,176	8,491	8,792
PSIII.2	1%	7,949	8,519	8,964	9,415	9,398
	2%	7,591	7,940	8,881	9,041	9,079
	3%	7,970	7,980	8,200	8,792	8,672

Grafik log jumlah sel bakteri selama inkubasi tercantum pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafik pertumbuhan isolat bakteri (CFU/g) selama 1-20 hari inkubasi pada perlakuan 1%, 2% dan 3%

Berdasarkan data Log jumlah bakteri selama inkubasi pada Gambar 3 menunjukkan bahwa perbedaan perlakuan solar dan lama waktu inkubasi berpengaruh terhadap pertumbuhan isolat bakteri. Perlakuan solar 1% pada isolat PSI.1 selama masa inkubasi mulai dari 1 – 20 hari, jumlah sel bakteri terus meningkat yaitu dari 7,505 CFU/g menjadi 9,279 CFU/g. Isolat PSII.1 jumlah sel bakteri yaitu

dari 7,857 CFU/g menjadi 9,255 CFU/g dan PSIII.2 jumlah sel yaitu dari 7,949 CFU/g menjadi 7,898 CFU/g.

Perlakuan solar 2% pada isolat PSI.1 selama masa inkubasi hari ke 1 sampai hari ke 20, jumlah sel bakteri terus meningkat yaitu 7,447 CFU/g menjadi 9,204 CFU/g. Isolat PSII.1 jumlah sel yaitu dari 6,778 CFU/g menjadi 8,886 CFU/g dan PSIII.2 yaitu dari 7,591 CFU/g menjadi 9,079 CFU/g.

Fardiaz, (1992) menyatakan bahwa aktivitas dan laju pertumbuhan mikrobial terjadi melalui enam fase berturut-turut yaitu fase adaptasi (fase lag), fase pertumbuhan awal, fase logaritmik (fase log), fase pertumbuhan lambat, fase pertumbuhan tetap dan fase kematian. Berdasarkan data pertumbuhan bakteri menunjukkan jumlah bakteri tumbuh paling sedikit pada tahap awal inkubasi, hal ini disebabkan pada fase ini masih dalam proses adaptasi terhadap substrat atau disebut fase lag.

Fase pertumbuhan awal adalah fase sel mikroorganisme melewati fase adaptasi, sel mulai tumbuh dalam jumlah yang sedikit, sebab sebagian sel masih tahap adaptasi (Waluyo, 2011). Hal ini terlihat pada inkubasi hari ke 1 pada setiap isolat bakteri, pada fase ini masih dalam proses adaptasi terhadap substrat atau disebut fase lag. Inkubasi pada hari ke 5 – 20, pertumbuhan bakteri mengalami terus peningkatan pada perlakuan 1% dan 2%. Hal ini terjadi karena bakteri berada pada fase pertumbuhan logaritmik yang ditandai

dengan bertambahnya jumlah bakteri yang sangat cepat. Fase pertumbuhan logaritmik merupakan fase pertumbuhan yang cepat karena mikroorganismenya sudah dapat menggunakan substrat yang ada sebagai sumber nutrisinya sehingga pertumbuhannya menjadi optimal pada hari ke 20. Pelczar, M.J, dan Chan, (2008), menyatakan bahwa pada fase logaritmik atau eksponensial ini aktifitasnya tinggi dan sel bertambah secara eksponen.

Perlakuan pada solar 3% pada isolat PSII.1 inkubasi hari ke 1 hingga hari 20 terjadi peningkatan jumlah bakteri, hal ini disebabkan bakteri berada pada fase logaritmik yang ditandai dengan bertambahnya jumlah bakteri. Isolat PSI.1 dan PSIII.2 pertumbuhan yang terus meningkat pada hari ke 1 hingga hari ke 15, hal ini disebabkan bakteri berada pada fase logaritmik atau eksponensial tetapi pada hari ke 20 mengalami penurunan pertumbuhan, hal ini disebabkan bakteri berada pada fase kematian karena nutrisi yang ada sudah berkurang sehingga terjadi kompetisi dari masing-masing sel bakteri untuk memperoleh nutrisi pada substrat (Hidayat, Padaga, & Suhartini, 2006).

Hasil dari ketiga isolat bakteri pada setiap perlakuan tersebut mampu tumbuh pada media yang diinkubasi selama 20 hari. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri dapat memanfaatkan hidrokarbon pada media untuk pertumbuhan dan aktivitas metabolisme. Selain itu nutrisi yang ditambahkan pada media mengandung unsur N (NH_4NO_3) dan P (KH_2PO_4) yang

dilarutkan dalam media untuk mencegah terjadinya defisiensi nutrisi sehingga diharapkan bakteri tetap dapat hidup selama inkubasi (Astuti, 2012).

Kadar sisa solar

Kadar sisa solar selama inkubasi diukur dengan menghitung volume sisa solar hasil degradasi.

Tabel 6. Kadar sisa solar pada media hasil degradasi isolat bakteri selama inkubasi 20 hari

Isolat	Perlakuan	Kadar Sisa Solar (%)						
		Waktu (Hari)						
		1	5	10	15	20		
		1	2	3	4	5	6	7
PSI.1	1%	100,00	93,96	93,04	92,31	88,10		
	2%	100,00	93,41	91,58	90,84	90,48		
	3%	100,00	94,87	90,84	82,05	80,95		
PSII.1	1%	100,00	94,51	92,31	90,84	87,91		
	2%	100,00	94,69	92,12	87,55	81,14		
	3%	100,00	94,14	87,55	74,36	70,70		
PSIII.2	1%	100,00	97,44	96,15	93,41	91,58		
	2%	100,00	92,12	90,48	86,63	86,45		
	3%	100,00	88,28	88,28	87,18	81,87		

Data Tabel 6 menunjukkan bahwa pada media hasil degradasi isolat bakteri selama 20 hari inkubasi dengan perlakuan konsentrasi solar yang berbeda. Perlakuan 1% isolat PSI.1 dengan kadar akhir sisa solar yaitu 88,10%, PSII.1 kadar sisa solar 87,91% dan PSIII.2 91,58%. Kadar sisa solar pada perlakuan 2% isolat PSI.1 sebesar 90,48%, PSII.1 sebesar 81,14% dan PSIII.2 86,45%. Kadar sisa solar pada perlakuan 3% isolat PSI.1 yaitu 80,95%, PSII.1 sebesar 70,70% dan PSIII.2 81,87%.

Berdasarkan data Tabel 6 diketahui bahwa perbedaan variasi pemberian konsentrasi solar dan lama waktu inkubasi menunjukkan pengaruh yang berbeda terhadap laju degradasi. Perlakuan 3% memiliki laju degradasi yang tertinggi yaitu isolat PSI.1 dengan kadar sisa solar

80,95%, PSII.1 70,70%, PSIII.2 81,87% jika dibandingkan dengan konsentrasi solar 1% dan 2%.

Perlakuan konsentrasi 3%, isolat PSII.1 mengalami penurunan kadar sisa solar tertinggi yaitu 70,70% pada inkubasi 20 hari. Perlakuan tersebut juga terjadi peningkatan jumlah sel yang tertinggi yaitu 8,491 CFU/g inkubasi hari ke 20 dari 8,491 CFU/g pada inkubasi ke 15 hari. Menurut Nugroho, Effendi, & Annisa, (2005), penurunan kadar hidrokarbon terjadi karena peningkatan populasi (jumlah sel) selama inkubasi, sehingga dengan peningkatan populasi tersebut maka jumlah substrat yang dibutuhkan bakteri juga semakin bertambah. Proses penguraian hidrokarbon oleh mikroorganisme dimulai dengan terjadinya perlekatan mikroorganisme pada globula minyak, yang dilanjutkan dengan proses pelarutan hidrokarbon. Hidrokarbon yang telah larut ini selanjutnya diserap ke dalam sel dan diurai melalui proses katabolisme. Jika sistem oksidasi mikroorganisme pengurai hidrokarbon dapat berjalan secara optimal, maka asam lemak yang terbentuk akan diurai sempurna menjadi energi, H₂O dan CO₂ (Folmer, Black, Hoeh, Lutz, & Vrijenhoek, 1994).

Simpulan

Berdasarkan pembahasan dan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa hasil seleksi bakteri pendegradasi solar diperoleh tiga isolat dari perairan Pelabuhan Penyeberangan Kendari-Wawonii, yaitu isolat bakteri PSI.1 dan

PSII.1 dan PSIII.2. Kemampuan mendegradasi solar dengan perlakuan 1%, 2% dan 3% solar, hasil terbaik dalam menurunkan kadar solar yaitu pada konsentrasi 3% selama 20 hari inkubasi pada isolat PSII.1 yang memiliki kemampuan tertinggi menurunkan kadar solar hingga 70,70%

DAFTAR PUSTAKA

- Aditiawati, P., Pikoli, M. R., & A, D. I. (2001). Isolasi Bertahap Bakteri Pendegradasi Minyak Bumi Dari Sumur Bangko. *Prosiding Simposium Nasional IATMI*, 1–8. Yogyakarta: IATMI, Yogyakarta.
- Alpentri. (1999). *Evaluasi Kemampuan Isolat Jamur dari Salah Satu Sumur Minyak Bumi Minas dalam Mendegradasi Minyak Bumi*. Intitut Teknologi Bandung.
- Anonim. (2011). *Pelabuhan Penyeberangan Kendari-Wawonii*. Kendari.
- Astuti, D. (2012). *Pengaruh Variasi Jumlah Inokulum Konsorsium Bakteri Terhadap Degradasi Hidrokarbon Minyak Bumi* (Universitas Indonesia (UI)). Retrieved from <http://lib.ui.ac.id/file?file=pdf/abstrak-20320418.pdf>
- Bartha, R., & Bossert, I. (1984). "The Treatment and Disposal of Petroleum Wastes,." In R. . Atlas (Ed.), *Petroleum Microbiology* (pp. 553–578). Retrieved from http://scholar.google.com/scholar_lookup?title=The+treatment+and+disposal+of+petroleum+wastes&author=R.+Bartha&author=I.+Bossert&publication_year=1984
- Blanchard, W. H. (2008). Biodegradation Potential of Oil in Arctic First-Year

- Sea Ice. In *University of New Hampshire*. Retrieved from <https://www.semanticscholar.org/paper/BIODEGRADATION-POTENTIAL-OF-OIL-IN-AR-CTIC-SEA-ICE-Blanchard/9875e0ddbcbde8501dde349d398592b65570464b>
- Fardiaz, S. (1992). *Mikrobiologi Pangan* (1st ed.; S. Fardiaz, Ed.). Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Fingerman, M., & Nagabhushanam, R. (2005). *Bioremediation of Aquatic and Terrestrial Ecosystem* (1st ed.; M. Fingerman & R. Nagabhushanam, Eds.). Retrieved from <http://www.scipub.net/>
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5), 294–299.
- Hidayat, N., Padaga, M. C., & Suhartini, S. (2006). *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta: Penerbit Andi.
- Husnileili. (2011). (*Heavy Oil Waste / How*) dengan Teknik *Bioslurry Menggunakan Salipiger sp . MY7 dan Bacillus altitudinis MY12*. Bogor.
- Kittel, J. ., Leeson, A., Hinchee, R. E., Miller, R. E., & Haas, P. E. (1994). "Bioslurping-Vacuum-Enhanced Free-Product Recovery Coupled With Bioventing: A Case Study,." *The Proceedings of the 1994 Conference on Petroleum Hydrocarbons and Organic Chemicals in Ground Water: Prevention, Detection, and Remediation*", (1), 614–713. Houston, Texas: NGWA.
- Lay, B. W. (1994). *Analisis Mikroba di Laboratorium* (1st ed.; B. W. Lay, Ed.). Retrieved from http://uilis.unsyiah.ac.id/uilis/index.php?p=show_detail&id=2786
- Moussa, T. A. A., Ahmed, G. M., & Abdelhamid, S. M. (2006). Optimization of Cultural Conditions for Biosurfactant Production from *Nocardia amarae*. *J. Appl. Sci. Res.*, 2(11), 844–850.
- Nugroho, A., Effendi, E., & Annisa, F. (2005). Pertumbuhan Konsorsium Isolat Bakteri Asal Benakat pada Media Minyak Bumi Bersalinitas Tinggi: Studi Kasus Biodegradasi Minyak Bumi Skala Laboratorium (Growth of Bacteria Isolat Consortium From Benakat on High Salinity Crude Oil Media). *Ilmu Dasar*, 8(2), 186–192.
- Pelczar, M.J, dan Chan, E. C. S. (2008). *Dasar-Dasar Mikrobiologi* (Indonesia; R. Hadioetomo & Sari, Ed.). Jakarta: UI Press.
- Peraturan Pemerintah R.I., M. N. L. H. (2004). *Standar Baku Mutu Air Laut untuk Biota Laut KepmenLH_No_51_thn_2004*. Jakarta: Kepmen-LH RI.
- Pertamina. (2009). Industrial Diesel Oil (Minyak Diesel). Retrieved February 26, 2016, from www.pertamina.com website: <http://www.pertamina.com/indonesia/head-office/hilir-pdn/product/prdsolar.html>
- Ron, E. Z., & Rosenberg, E. (2001). Natural Roles of Biosurfactants. *Environmental Microbiology*, 3(4), 229–236. <https://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2001.00190.x>
- Rosenberg, E., Rubinovitz, C., Gottlieb, A., Rosenhak, S., & Ron, E. Z. (1988). Production of Biodispersan by *Acinetobacter calcoaceticus* A2. *Applied and Environmental Microbiology*, 54(2), 317–322. Retrieved from

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16347544>
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC202449>
- Sutton, S., & Sutton, S. (2011). Measurement of Microbial Cells by Optical Density. *46 Journal of Validation Technology*, 17(1), 46–49. Retrieved from www.microbiol.org
- Volk, W. A., & Wheeler, M. F. (1988). Mikrobiologi Dasar. In S. Adisoemarto (Ed.), *Mikrobiologi Dasar* (5th ed., p. xii + 396 hlm.). Retrieved from <http://laser.umm.ac.id/catalog-detail-copy/0466589/>
- Waluyo, L. (2011). *Mikrobiologi Umum* (Revisi; L. Waluyo, Ed.). Retrieved from <https://scholar.google.co.id/scholar?oi=bibs&cluster=4938648824862039302&btnI=1&hl=en>
- Widjajanti, H., Muharni, & Mirfat. (2013). Screening of Biosurfactant Producing Hydrocarbonoclastic Bacteria as a Bioremediation Agent of Petroleum Contaminated Environment. *Prosiding SEMIRATA FMIPA UNILA*, 339–346. Lampung: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.