

Potensi Degradasi Minyak oleh Konsorsium Bakteri dari Sedimen Mangrove Bintan

Nur Fitriah Afianti¹, Deva Febrian²

^{1,2}Pusat Penelitian Oseanografi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Jakarta 14430
¹E-mail: nurfitriahafianti@gmail.com

ABSTRAK

Wilayah Bintan berpotensi mengalami cemaran limbah minyak karena letaknya yang berbatasan dengan jalur perairan internasional. Bintan juga merupakan wilayah dengan kawasan mangrove yang tinggi. Ketahanan mangrove terhadap cemaran minyak bumi juga penting untuk menjaga kelestarian ekosistem mangrove. Pada penelitian ini dilakukan studi mengenai kemampuan konsorsium bakteri dari sedimen mangrove Bintan dalam mendegradasi senyawa minyak mentah. Sampel sedimen dari dua jenis mangrove, *Rhizophora apiculata* (1) dan *Xylocarpus granatum* (2), diambil dari dua wilayah di Bintan yaitu Lagoi (S) dan Kawal (K). Konsorsium bakteri sedimen mangrove diperkaya dengan menggunakan media mineral dan ALCO (*Arabian Light Crude Oil*) sebagai sumber karbon secara berulang untuk mendapatkan konsorsium yang stabil. Hasil uji degradasi selama 42 hari menunjukkan bahwa keempat konsorsium bakteri memiliki kemampuan mendegradasi minyak mentah. Urutan penurunan konsentrasi minyak dari paling tinggi berturut-turut ditunjukkan oleh perlakuan S2, S1, K1 dan K2 dengan persentase penurunan TPH adalah 52,9%, 48,4%, 45,7% dan 35,7%. Konsorsium bakteri hidrokarbonoklastik sedimen mangrove *Xylocarpus granatum* dari daerah Lagoi (S2) menghasilkan persentase degradasi TPH paling tinggi. Pada penelitian ini, tidak terlihat adanya pengaruh jenis mangrove terhadap laju degradasi minyak.

Kata Kunci

Bakteri, Bintan, bioremediasi, mangrove, sedimen

1. PENDAHULUAN

Pesisir Bintan merupakan wilayah dengan kawasan ekosistem mangrove yang tinggi. Kekayaan sumber daya alam ini merupakan salah satu ekowisata penting. Namun, dalam beberapa dekade terakhir, sumber daya ekologi ini mengalami degradasi akibat aktivitas antropogenik dan pembuangan pencemar lingkungan yang tidak terkendali yang menyebabkan pencemaran di kawasan pantai dan mangrove Pulau Bintan. Perairan Bintan yang letaknya berbatasan dengan jalur perairan internasional ini sangat rentan terhadap pencemaran limbah minyak bumi berupa berupa tarball yang terjadi setiap tahun pada musim tertentu [1]–[3]. Pencemaran minyak tidak hanya berdampak pada ekowisata mangrove namun juga dapat merusak ekosistem pesisir dan meracuni biota.

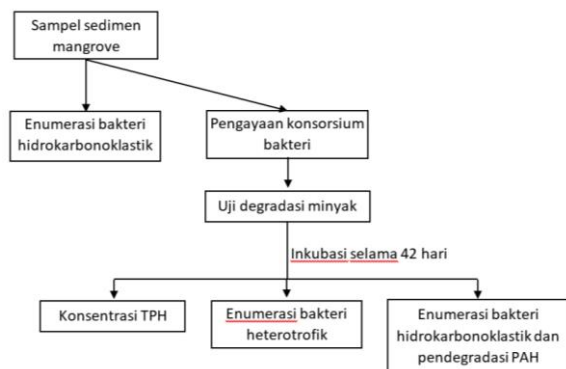
Ekosistem mangrove merupakan tempat yang sangat baik bagi tumbuhan, biota maupun mikroorganisme. Mikroorganisme terutama bakteri berperan dalam proses dekomposisi karbon seperti serasah pada sedimen mangrove dan transformasi nutrisi seperti nitrogen dan fosfor [4]. Keragaman bakteri pada sedimen mangrove sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungannya. Keragaman bakteri pada mangrove ini berpotensi dimanfaatkan untuk pengelolaan

lingkungan yang ramah lingkungan dan efektif dalam mengatasi pencemaran minyak, yaitu melalui proses bioremediasi [1], [5].

Bakteri hidrokarbonoklastik atau bakteri pendegradasi minyak mampu memanfaatkan senyawa kompleks hidrokarbon untuk proses metabolisme, serta mengubahnya menjadi senyawa lain yang lebih sederhana yang kurang atau tidak toksik [6]. Hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Afianti et al (2019), sedimen mangrove yang berasal dari daerah Lagoi telah diketahui mengandung bakteri hidrokarbonoklastik. Dari sedimen mangrove *Rhizophora apiculata* dan *Xylocarpus granatum* asal Lagoi, Bintan, telah diisolasi 18 isolat bakteri hidrokarbonoklastik. Empat diantaranya juga memiliki kemampuan mendegradasi komponen minyak bumi, yaitu PAH (*polycyclic aromatic hydrocarbon*). Kelompok bakteri yang diisolasi teridentifikasi berasal dari filum Alphaproteobacteria dan Firmicutes [7].

Pada penelitian ini, dilakukan studi untuk mengetahui kemampuan konsorsium bakteri dari sedimen mangrove Bintan dalam mendegradasi senyawa minyak mentah.

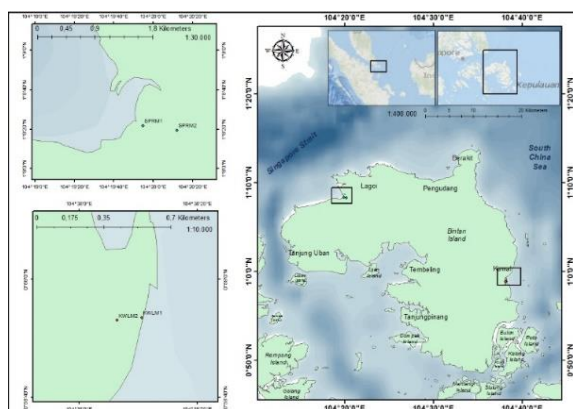
2. METODOLOGI



Gambar 1. Alur penelitian

2.1 Pengambilan Sampel

Lokasi pengambilan sampel berada di tengah hutan mangrove di Kabupaten Bintan pada Maret 2018 (Gambar 2). Pada dua lokasi studi, sedimen diambil dari dua jenis mangrove (Tabel 1). Dua sampel didapatkan dari daerah lagoi (S1 dan S2) dan dua sampel dari daerah Kawal (K1 dan K2), masing-masing berasal dari sedimen mangrove *Rhizophora apiculata* dan *Xylocarpus granatum*. Sampel sedimen diambil menggunakan pipa dari 3 titik kemudian dihomogenisasi dan dimasukkan secara aseptik ke dalam Falcon tube 15 ml. Sampel dimasukkan ke dalam *ice box* untuk selanjutnya dilakukan analisis kelimpahan bakteri hidrokarbonoklastik dan pengayaan konsorsiumnya di laboratorium.



Gambar 2. Peta pengambilan sampel sedimen mangrove

Tabel 1. Lokasi dan jenis mangrove pada stasiun pengambilan sampel sedimen

| Lokasi | Stasiun | Koordinat | | Jenis Mangrove |
|--------|---------|---------------|----------------|-----------------------------|
| | | Lintang | Bujur | |
| Lagoi | S1 | 01°08'22,969" | 104°19'51,722" | <i>Rhizophora apiculata</i> |
| | S2 | 01°08'21,076" | 104°19'52,035" | <i>Xylocarpus granatum</i> |
| Kawal | K1 | 0°58'53,525" | 104°38'10,640" | <i>Rhizophora apiculata</i> |
| | K2 | 0°58'53,032" | 104°38'06,45" | <i>Xylocarpus granatum</i> |

2.2 Pengayaan Konsorsium Bakteri

Bakteri hidrokarbonoklastik dari sedimen mangrove didapatkan melalui pengayaan dengan menggunakan media mineral medium (4,5 g K_2HPO_4 ; 0,2 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 0,1 g $CaCl_2$; 0,1 g $NaCl$; 0,002 g $FeCl_3$; 0,1 g $(NH_4)_2SO_4$; 1 L aquades) yang mengandung 1% *crude oil* berupa ALCO (arabian light crude oil) [8]. Sebanyak 3 gram sedimen dari masing-masing sampel komposit dimasukkan ke dalam 30 ml mineral medium dan 1% (v/v) ALCO dalam Erlenmeyer 100 mL. Sampel diinkubasi pada suhu ruang dengan agitasi 120 rpm. Setiap 2 minggu, 3 ml kultur supernatan ditransfer ke 27 ml media mineral medium baru dengan tambahan 1% ALCO. Untuk mendapatkan konsorsium bakteri hidrokarbonoklastik yang stabil, pengayaan bakteri dilakukan secara berulang setiap 2 minggu selama 4 bulan.

2.3 Uji Degradasi Minyak

Konsorsium bakteri hidrokarbonoklastik yang telah diperkaya, diuji kemampuannya dalam mendegradasi minyak selama 42 hari. Konsorsium bakteri dimasukkan ke dalam 200 ml medium MM yang mengandung 1% (v/v) ALCO steril. Kepadatan inokulum konsorsium bakteri yang digunakan adalah $OD_{600} = 0.8$ dengan asumsi kepadatan bakteri sebanyak 10^8 CFU/ml. Mineral medium mengandung 1% ALCO tanpa penambahan inokulum digunakan sebagai kontrol. Inkubasi dilakukan dengan agitasi 120 rpm pada suhu ruang selama 42 minggu.

2.3.1 Pengukuran konsentrasi TPH

Ekstraksi minyak dari sampel dilakukan menggunakan pelarut diklorometan dan n-heksan dengan perbandingan 1:1 (v/v) secara bergantian hingga didapatkan larutan sampel berwarna bening yang menandakan semua senyawa hidrokarbon telah terekstraksi. Konsentrasi TPH dianalisis dengan menggunakan FTIR (Thermo Scientific Nicolet IS5 –

ID1 Transmission accessory) dengan penambahan tetrakroloetilen.

2.3.2 Enumerasi bakteri

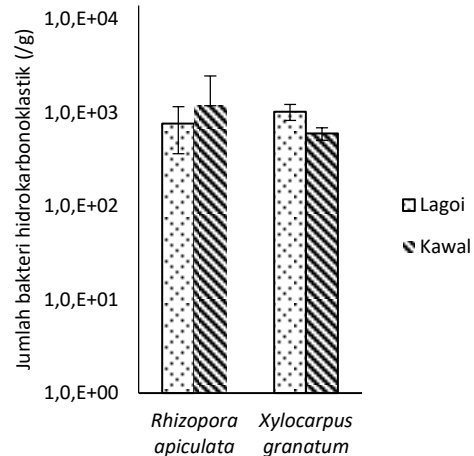
Kelimpahan bakteri heterotrofik selama masa perlakuan dianalisis menggunakan *Total Plate Count* (TPC). Sebanyak 1 gram sampel dilakukan serial dilution dan ditumbuhkan pada media marine agar (MA). Jumlah total bakteri heterotrofik dinyatakan dalam satuan cfu/ml.

Bakteri hidrokarbonoklastik dan bakteri pendegradasi PAH dihitung dengan metode *most probable number* (MPN). Sebanyak 20 µl sampel pada setiap pengenceran dimasukkan ke dalam *microplate* yang telah berisi mineral medium (4,5 g K₂HPO₄; 0,2 g MgSO₄·7H₂O; 0,1 g CaCl₂; 0,1 g NaCl; 0,002 g FeCl₃; 0,1 g (NH₄)₂SO₄; dan 1 L aquades) dengan penambahan *crude oil* ALCO sebanyak 2 µl untuk bakteri hidrokarbonoklastik atau penambahan mix PAH sebanyak 5 µl untuk bakteri pendegradasi PAH. Sampel diinkubasi pada suhu 28°C selama 14 hari. Hasil positif pertumbuhan bakteri hidrokarbonoklastik ditunjukkan melalui perubahan warna media menjadi ungu setelah satu hari penambahan 30 ul INT. Sedangkan pertumbuhan bakteri pendegradasi PAH ditandai oleh perubahan warna media menjadi kuning setelah inkubasi selama 21 hari. Jumlah bakteri hidrokarbonoklastik dan bakteri pendegradasi PAH dinyatakan dalam satuan MPN/ml.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Sampel sedimen mangrove

Bakteri hidrokarbonoklastik telah ditemukan terdapat pada sedimen mangrove Bintan, baik dari daerah Lagoi maupun Kawal. Diantara dua jenis mangrove, *Rhizopora apiculata* dan *Xylocarpus granatum*, tidak ada perbedaan kelimpahan bakteri hidrokarbonoklastik yang signifikan (Gambar 3). Kelimpahan bakteri hidrokarbonoklastik tertinggi terdapat pada sedimen mangrove *Rhizopora apiculata*. Secara keseluruhan, rata-rata kelimpahan bakteri hidrokarbonoklastik yang terdeteksi pada sedimen mangrove Bintan adalah 8,89x10²/g. Bakteri hidrokarbonoklastik tersedia di alam dalam jumlah yang beragam, dan akan meningkat ketika terjadi pencemaran minyak [5]. Oleh karenanya, di daerah yang kandungan bakteri hidrokarbonoklastiknya tinggi dapat diduga memiliki konsentrasi cemaran minyak yang tinggi pula.



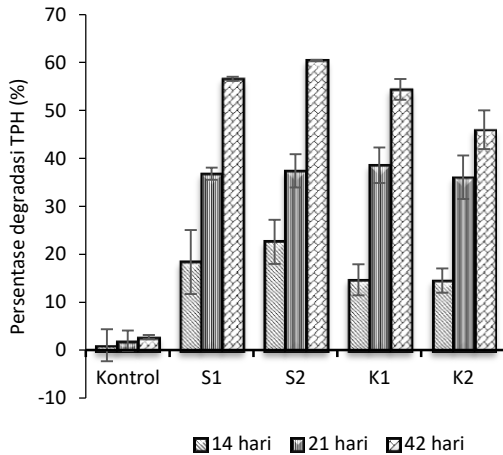
Gambar 3. Kelimpahan bakteri hidrokarbonoklastik pada sedimen mangrove

3.2. Uji degradasi minyak

Konsorsium bakteri diperkaya dari sedimen mangrove mampu mendegradasi minyak mentah. Hasil uji degradasi menunjukkan bahwa konsorsium bakteri dari sedimen mangrove Lagoi menghasilkan penurunan konsentrasi TPH yang lebih tinggi dibanding konsorsium bakteri sedimen mangrove Kawal (Gambar 4). Penurunan konsentrasi TPH dari paling tinggi secara berurutan ditunjukkan oleh konsorsium bakteri S2, S1, K1 dan K2 dengan persentase penurunan TPH berturut-turut adalah 52,9%, 48,4%, 45,7% dan 35,7%. Konsorsium bakteri hidrokarbonoklastik sedimen mangrove *Xylocarpus granatum* dari daerah Lagoi (S2) menunjukkan persentase degradasi TPH paling tinggi yaitu sebanyak 52,9%.

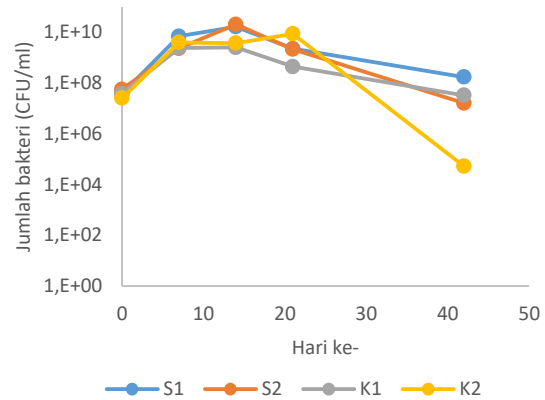
Pada hasil ini tidak terlihat adanya pengaruh jenis mangrove terhadap bakteri laju degradasi TPH. Pada sedimen dari daerah Lagoi, konsorsium bakteri mangrove *Xylocarpus granatum* menghasilkan persentase penurunan TPH yang lebih tinggi dibandingkan sedimen mangrove *Rhizopora apiculata*. Hal sebaliknya ditunjukkan oleh konsorsium bakteri asal sedimen mangrove Kawal. Secara umum, konsorsium bakteri dari daerah Lagoi menunjukkan penurunan konsentrasi TPH yang lebih tinggi dibanding daerah Kawal. Hal ini mungkin disebabkan karena perbedaan komunitas bakteri pada kedua daerah. Taktani et al (2010) juga menyebutkan bahwa komposisi komunitas bakteri pada setiap kawasan berbeda-beda, salah satunya disebabkan karena perbedaan faktor fisika kimia pada sedimen mangrove [9]. Selain itu, paparan cemaran minyak yang terjadi setiap tahun di wilayah Lagoi, pesisir utara Pulau Bintan, secara perlahan dapat menyebabkan perubahan keragaman komunitas dan kelimpahan bakteri pada

sedimennya, sehingga mampu mendegradasi minyak dengan lebih cepat.



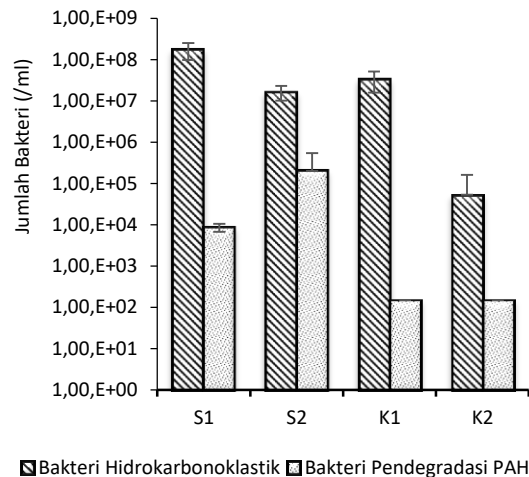
Gambar 4. Persentase penurunan TPH selama masa uji degradasi minyak

Perubahan kelimpahan bakteri heterotrofik selama masa uji degradasi ditunjukkan pada Gambar 5. Pada awal percobaan, dengan inokulum OD 0,8 pada masing-masing sampel, menghasilkan jumlah inokulum bakteri yang relatif sama pada semua perlakuan. Jumlah bakteri heterotrofik pada pengamatan pertama hari ke-0 pada perlakuan S1, S2, K1, dan K2 berturut-turut adalah $3,85 \times 10^7$ cfu/ml, $5,75 \times 10^7$ cfu/ml, $3,92 \times 10^7$ cfu/ml, dan $2,59 \times 10^7$ cfu/ml. Pola pertumbuhan bakteri menunjukkan tren peningkatan kelimpahan bakteri hingga hari ke-14 dan penurunan pada akhir perlakuan. Peningkatan kelimpahan bakteri sejalan dengan penurunan konsentrasi TPH. Kelimpahan bakteri tertinggi ditunjukkan oleh konsorsium S1 dan S2 pada pengamatan hari ke-14. Peningkatan kelimpahan bakteri menunjukkan adanya aktivitas bakteri memanfaatkan sumber karbon pada perlakuan, yaitu minyak mentah. Selama proses bioremediasi, bakteri hidrokarbonoklastik akan terlebih dahulu memanfaatkan senyawa hidrokarbon sederhana yang lebih mudah didegradasi, seperti senyawa alkana [5], sehingga peningkatan kelimpahan bakteri yang tinggi terjadi pada masa awal perlakuan. Sementara penurunan kelimpahan bakteri pada akhir reaksi yang menunjukkan adanya kematian sel yang lebih tinggi dibandingkan pertumbuhan sel, mungkin disebabkan kurangnya nutrisi pada akhir perlakuan. Selain memanfaatkan minyak sebagai sumber karbon, bakteri juga membutuhkan senyawa lain seperti nitrogen dan fosfor untuk metabolismenya [10]. Di samping itu, penurunan kelimpahan bakteri mungkin disebabkan menumpuknya senyawa sisa metabolisme yang bersifat toksik terhadap bakteri.



Gambar 5. Perubahan kelimpahan bakteri selama masa uji degradasi minyak

Kelimpahan bakteri hidrokarbonoklastik dan bakteri pendegradasi PAH dihitung pada akhir pengamatan seperti ditunjukkan pada Gambar 6. Bakteri hidrokarbonoklastik tertinggi terdeteksi pada perlakuan S1. Sementara pada perlakuan S2 yang menghasilkan penurunan konsentrasi minyak tertinggi, diketahui mengandung kelimpahan bakteri pendegradasi PAH yang paling tinggi dengan perbedaan yang signifikan dibandingkan perlakuan lainnya. Polisiklik aromatik hidrokarbon atau PAH adalah salah satu jenis senyawa hidrokarbon yang terdiri dari dua atau lebih cincin benzena yang bersifat *recalcitrant* atau sulit terdegradasi [11].



Gambar 6. Bakteri hidrokarbonoklastik dan pendegradasi PAH dihitung dengan metode MPN pada akhir perlakuan.

4. KESIMPULAN

Uji degradasi secara *in vitro* menunjukkan bahwa konsorsium bakteri sedimen mangrove Bintan memiliki kemampuan mendegradasi minyak, dimana

konsorsium bakteri sedimen mangrove *Xylocarpus granatum* dari daerah Lagoi menghasilkan penurunan konsentrasi TPH tertinggi. Secara umum, daerah Lagoi yang lebih sering terpapar cemaran minyak diperkirakan memiliki komunitas bakteri dengan kemampuan mendegradasi minyak yang lebih tinggi. Bakteri hidrokarbonoklastik dan bakteri pendegradasi PAH yang terdapat dalam sedimen mangrove berpotensi dimanfaatkan untuk proses bioremediasi dalam upaya mengatasi pencemaran minyak di wilayah Bintan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai dari dana penelitian Prioritas LIPI melalui program Coral Reef Management and Rehabilitation Program-Coral Triangle Initiative (COREMAP-CTI) tahun anggaran 2018.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] A. D. Syakti, "Marine Bioremediation in Indonesia: Die Before Blossom," *Omni-Akuatika*, vol. 14, no. 3, pp. 117–127, Nov. 2018.
- [2] W. E. Yudiatmaja, T. Samnuzulsari, Suyitno, and Yudithia, "Transforming institutional design in addressing sludge oil in Bintan seawater, Kepulauan Riau, Indonesia," *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, vol. 423, no. 012059, 2020, doi: 10.1088/1755-1315/423/1/012059.
- [3] I. M. Rizqan, "Tumpahan Minyak Hitam di Pesisir Utara Pulau Bintan," 2019. <https://kkp.go.id/bpsplpadang/artikel/9476-tumpahan-minyak-hitam-di-pesisir-utara-pulau-bintan> (accessed Jun. 12, 2019).
- [4] G. Holguin, P. Vazquez, and Y. Bashan, "The role of sediment microorganisms in the productivity, conservation, and rehabilitation of mangrove ecosystems: An overview," *Biol. Fertil. Soils*, vol. 33, no. 4, pp. 265–278, 2001, doi: 10.1007/s003740000319.
- [5] M. A. Ramsay, R. P. Swannell, W. A. Shipton, N. C. Duke, and R. T. Hill, "Effect of Bioremediation on the Microbial Community in Oiled Mangrove Sediments," *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 41, no. 7–12, pp. 413–419, Jan. 2000, doi: 10.1016/S0025-326X(00)00137-5.
- [6] H. F. Santos, F. L. Carmo, J. E. S. Paes, A. S. Rosado, and R. S. Peixoto, "Bioremediation of mangroves impacted by petroleum," *Water. Air. Soil Pollut.*, vol. 216, no. 1–4, pp. 329–350, Mar. 2011, doi: 10.1007/s11270-010-0536-4.
- [7] N. F. Afianti, D. Febrian, and D. Falahudin, "Isolasi Bakteri Pendegradasi Minyak Mentah dan Polisiklik Aromatik Hidrokarbon dari Sedimen Mangrove Bintan," *Oseanologi dan Limnol. di Indones.*, vol. 4, no. 3, p. 155, Dec. 2019, doi: 10.14203/oldi.2019.v4i3.260.
- [8] J. T. Bensing, E. O. Edullantes, B. Silapan, J. R. Narsico, "Oil degrading and heterotrophic bacteria composition in the oil-spilled affected mangrove forest sediment in Mactan Island, Central Philippines," *Int. J. Biosci.*, vol. 5, no. 8, pp. 141–146, 2014.
- [9] R. G. Taketani, N. O. Franco, A. S. Rosado, and J. D. van Elsas, "Microbial community response to a simulated hydrocarbon spill in mangrove sediments," *J. Microbiol.*, vol. 48, no. 1, pp. 7–15, Feb. 2010, doi: 10.1007/s12275-009-0147-1.
- [10] H. I. Atagana, R. J. Haynes, and F. M. Wallis, "Optimization of soil physical and chemical conditions for the bioremediation of creosote-contaminated soil," *Biodegradation*, vol. 14, no. 4, pp. 297–307, 2003, doi: 10.1023/A:1024730722751.
- [11] R. A. Kanaly and S. Harayama, "Biodegradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria," *J. Bacteriol.*, vol. 182, no. 8, pp. 2059–67, Apr. 2000, Accessed: Aug. 06, 2018. [Online]. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10735846>.