

# Isolasi dan Identifikasi Bakteri Hidrokarbon di Sekitar Rizosfer Rumput Belulang (*Eleusine Indica* (L.) Gaertn) yang Berperan dalam Fitoremediasi Limbah Minyak Bumi

SRI PERTIWI ESTUNINGSIH, MUHARNI, DAN MARINDAH RYNANDA

Program Biologi, Universitas Sriwijaya, Sumatera Selatan Indonesia

**INTISARI:** Telah dilakukan penelitian tentang Isolasi dan Identifikasi Bakteri Hidrokarbon di Sekitar Rizosfer Rumput Belulang (*Eleusine indica*[L.] Gaertn). Fitoremediasi Limbah Minyak Bumi dilakukan selama 4 bulan di Rumah kaca dan Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sriwijaya. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri hidrokarbon yang berperan dalam proses fitoremediasi limbah minyak bumi menggunakan rumput *Eleusine indica*(L.) Gaertn dan mengetahui karakteristik isolat bakteri yang diperoleh. Sampel tanah diambil dari bioreaktor perlakuan (yang ditanami *E.Indica*) dan bioreaktor kontrol (tanpa *E.Indica*) setiap 2 minggu sekali. Jumlah Bakteri pada Bioreaktor yang ditanamai *E indica* lebih besar dibanding pada bioreactor tanpa *E.Indica*. Hasil Seleksi, karakterisasi dan identifikasi.diperoleh 4 Isolat bakteri pada bioreaktor tanpa *E. Indica* yang dapat dikelompokkan menjadi 4 genus yaitu *Azotobakter*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, dan *acetobacter*. Sedangkan dari bioreaktor yang ditanami *E. Indica* didapatkan 9 isolat bakteri yang dapat dikelompokkan kedalam 5 genus yaitu *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Mycobacterium* dan *Acinetobacter*.

**KATA KUNCI:** isolasi, fitoremediasi, rizosfer, bakteri hidrokarbon

**ABSTRACT:** The research of Isolation and Identification Hydrocarbon Bacteria had been conducted at Rhizosphere of Belulang Grasses (*Eleusine indica* (L.) Gaertn) during phytoremediation of petroleum sludge process. It had been done during 4 months in Laboratory of Microbiology, Departement of Biology, Mathematics and Natural Science Faculty, University of Sriwijaya. The soil sample was taken from treatment bioreactor (planted *E. indica*) and control bioreactor (unplanted *E. indica*). The bacteria were identified in every 2 weeks during phytoremediation process. The population of bacteria in bioreactor planted with *E indica* is greater than unplanted it. The selection, characterization, and identification results 4 isolated bacteria in unplanted bioreactor were classified in 4 genus as *Azotobakter*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, and *acetobacter*. While in the bioreactor planted with *E. Indica* there were 9 isolated bacteria classified in 5 genus as *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Mycobacterium* and *Acinetobacter*.

**KEYWORDS:** isolation, phytoremediation, rhizosphere, hydrocarbon bacteria

E-MAIL: yudonob@hotmail.com

Januari 2012

## 1 PENDAHULUAN

**F**itoremediasi merupakan penggunaan tumbuhan untuk menghilangkan, memindahkan, menstabilkan, atau menghancurkan bahan pencemar baik itu senyawa organik maupun anorganik. Fitoremediasi ini mengandalkan pada peranan tumbuhan untuk menyerap, mendegradasi, mentransformasi dan mengimobilisasi bahan pencemar, baik itu logam berat maupun senyawa organik<sup>[1]</sup>.

Peran tanaman terhadap degradasi senyawa hidrokarbon dapat secara langsung maupun tidak langsung. Tanaman menyediakan cairan (eksudat) akar yang terdiri dari karbon, energi, nutrien, enzim dan kadang oksigen bagi mikroba tanaman di daerah ri-

zosfer. Adanya cairan akar pada daerah rizosfer akan meningkatkan populasi mikoba menjadi 5-100 kali lebih banyak daripada di daerah non rizosfer, yang kemudian meningkatkan terjadinya degradasi senyawa hidrokarbon<sup>[2]</sup>

Berbagai macam tanaman diketahui memiliki potensi sebagai agen fitoremediasi senyawa petroleum hidrokarbon. Kelompok tanaman seperti rumput-rumputan dan kacang-kacangan (*Legumes*) berpotensi sangat besar dibandingkan dengan tanaman lainnya. Berdasarkan penelitian<sup>[3]</sup>, melaporkan bahwa rumput *Eleusine indica*(L.)Gaertn mempunyai kemampuan toleransi yang paling baik pada tanah tercemar. Hal ini dapat dilihat dari kemampuan rumput ini tum-

buh optimal pada konsentrasi crude oil yaitu 7,5% dan berat basah yang diperoleh pada konsentrasi ini paling tinggi dibandingkan jenis rumput lain. Menurut<sup>[2]</sup> dalam<sup>[4]</sup> semakin lama proses degradasi maka makin banyak senyawa yang terdegradasi, sehingga jenis minyak bumi yang tersisa akan berbeda. Dengan adanya perbedaan jenis minyak bumi maka jenis bakteri pendegradasi akan berbeda pula. Selain itu semakin lama degrassi maka jumlah bakteri semakin berkurang. Isolat bakteri yang mampu mendegradasi minyak bumi dapat diperoleh dari hasil isolasi didaerah tercemar minyak bumi.

## 2 METODOLOGI PENELITIAN

### 2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan selama 4 bulan di Rumah Kaca dan Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya Palembang.

### 2.2 Cara Kerja

#### **Pembuatan Bioreaktor**

Setiap bioreaktor dimasukkan bahan-bahan yang telah disiapkan dengan komposisi *sludge* limbah, tanah segar, pupuk KCL, NPK dan TSP dengan rasio 100 :10: 1: 0,1 serta *bulking agent* berupa sekam padi 10%. kemudian diaduk hingga homogen. Setelah semuanya homogen, *sludge* limbah minyak bumi yang telah disiapkan sesuai dengan perlakuan dimasukkan dalam ember besar (bioreaktor) dan diaduk hingga homogen. Masing-masing bioreaktor diletakkan di dalam rumah kaca. Bioreaktor yang digunakan sebanyak 4 buah bioreaktor dengan konsentrasi *sludge* limbah 7,5%. Masing-masing 2 buah bioreaktor yang ditanami rumput (bioreaktor perlakuan) dan 2 buah bioreaktor yang tidak ditanami rumput (sebagai kontrol).

#### **Penanaman dan Pemeliharaan Tanaman**

Rumput *Eleusine indica* (L.) Gaertn yang dalam fase vegetatif dengan berat segar 200 gram ditanam menjadi 5 rumpun di dalam bioreaktor. Pemeliharaan tanaman selama 2 bulan

#### **Pengambilan Sampel**

Sampel yang digunakan sebagai sumber isolat diambil dari bioreaktor yang telah dibuat. Pengambilan sampel dilakukan dengan metode *purposive Random Sampling*. Dari bioreaktor yang ditanami rumput diambil sampel pada sekitar perakaran tanaman *Eleusine indica* (L.) Gaertn sebanyak 10 gr dan diambil pula sampel dari bioreaktor yang tidak ditanami rumput.

Sampel tanah diambil setiap 2 minggu sekali selama 2 bulan.

### **Tahapan Pengayaan**

Masing-masing sampel tanah dari rizosfer tanaman diambil sebanyak 5 gr, kemudian dimasukkan ke dalam erlemeyer yang berisi 45 ml BHMS, selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar dan diagitasi dengan kecepatan 150 rpm selama 5 hari.

1. **Isolasi.** Masing-masing sampel dalam medium BHMS cair yang telah berubah menjadi keruh diencerkan mulai  $10^{-1}$  sampai  $10^{-6}$  dengan cara menghomogenkan 1 ml sampel dalam medium BHMS cair dengan 9 ml Aquades steril dari pengenceran  $10^{-1}$  diencerkan sampai  $10^{-6}$ . Kemudian dari masing-masing pengenceran 10<sup>-4</sup>, 10<sup>-5</sup>, 10<sup>-6</sup> ditumbuhkan pada medium Zobell agar, dengan metode *pour plate* dan inkubasi pada suhu 37°C selama 2 × 24 jam, kemudian diamati koloni bakteri dan dilakukan penghitungan jumlah bakteri dalam satuan sel/ml<sup>[5]</sup>

Masing-masing pengenceran dari tiap sampel pada Zobell lempeng diamati koloni yang tumbuh dengan ciri berbeda. Koloni yang tumbuh dengan ciri berbeda dimurnikan dengan cara *distreak* pada medium Zobell agar steril dalam cawan petri, lalu diinkubasi selama 2x24 jam pada suhu 37°C<sup>[5]</sup>

2. **Seleksi**

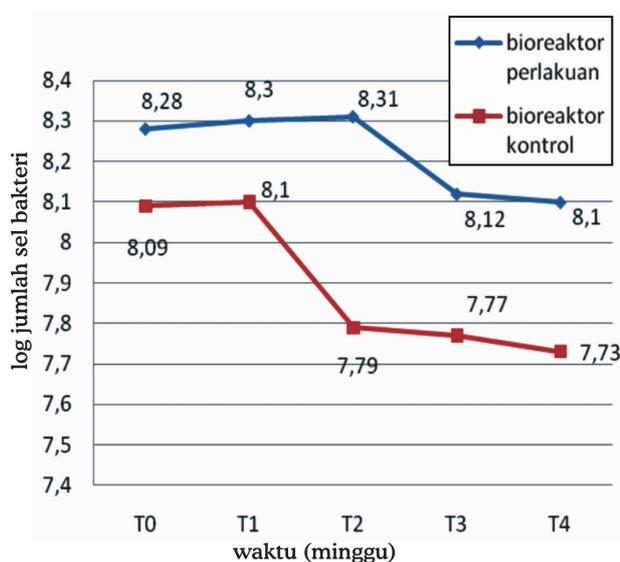
- (a) *Seleksi Tahap 1.* Masing-masing isolat yang telah dimurnikan pada 10-15 ml medium Zobell agar dalam cawan petri diinokulasikan dengan metode gores, lalu disiapkan kertas saring yang telah diolesi dengan *crude oil* lalu diletakkan diatas permukaan medium Zobell yang telah diinokulasi bakteri. Kultur diinkubasi pada suhu kamar selama 5 hari.

- (b) *Seleksi Tahap 2.* Isolat yang lolos pada tahap seleksi 1 diinokulasikan pada medium Soemarti cair. Tabung reaksi diisi dengan 10 ml medium Soemarti cair ditambahkan *crude oil* steril dengan menggunakan pipet tetes steril sebanyak 6 tetes pada permukaan medium tersebut.

3. **Karakterisasi.** Isolat bakteri dilakukan karakterisasi yang meliputi morfologi koloni, morfologi sel bakteri dan karakteristik fisiologi yang terdiri dari uji indol, uji H<sub>2</sub>S, uji *methyl red*, uji *voges proskauer*, uji sitrat, uji motilitas, uji hidrolisis pati, uji hidrolisis gelatin, uji hidrolisis urea, uji katalase serta uji fermentasi karbohidrat.

### 3 HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan proses isolasi bakteri yang berasal dari bioreaktor yang ditanami rumput *E. Indica* dan bioreaktor tanpa rumput *E. indica* dalam fitoremediasi limbah minyak bumi, diperoleh hasil perhitungan jumlah sel bakteri



GAMBAR 1: Jumlah sel bakteri yang diisolasi dari bioreaktor perlakuan (ditanami *E. indica*) dan dari bioreaktor kontrol (tanpa *E. indica*)

Jumlah bakteri yang berasal dari bioreaktor yang ditanami *E. indica* lebih banyak dibandingkan dengan jumlah bakteri yang berasal dari bioreaktor tanpa *E. indica*. Tingginya jumlah bakteri diduga karena adanya interaksi yang saling menguntungkan antara tanaman dan bakteri terutama di sekitar rizosfer tanaman. Bakteri mampu menyediakan nutrisi dan  $\text{CO}_2$  yang dihasilkan dari degradasi senyawa hidrokarbon, nutrisi dan  $\text{CO}_2$  dapat dimanfaatkan oleh *E. indica* untuk pertumbuhannya, dengan tumbuhnya *E. indica* maka tanaman mampu menghasilkan eksudat akar dan memberikan suplai oksigen yang dapat dimanfaatkan oleh bakteri untuk pertumbuhannya. Hal ini sesuai pendapat Sisiliano dan Germida (1998)<sup>[6]</sup> bahwa efek rizosfer dapat meningkatkan kondisi fisik dan kimia tanah sekitar rizosfer dan ekresi eksudat akar.

Isolat yang diperoleh dari hasil isolasi dan pemurnian sampel dari 2 bioreaktor yaitu sebanyak 21 jenis isolat, masing-masing 15 isolat yang berasal dari bioreaktor yang ditanami *E. indica* dan 6 jenis isolat berasal dari bioreaktor tanpa *E. indica*.

Jumlah isolat yang diperoleh berbeda-beda antara isolat yang diisolasi dari sekitar rizosfer rumput *E. indica* dengan isolat yang diisolasi dari bioreaktor tanpa rumput. Banyaknya isolat bakteri dari bioreaktor

TABEL 1: Isolat Bakteri Hidrokarbon yang Lolos Seleksi Tahap I dan II

Asal Sampel	Waktu	Isolat	
		Jml	Kode
Bioreaktor perlakuan (ditanami <i>E. indica</i> )	T0	6	A, B, C, D, E, L
	T1	8	C, B, D, E, F, G, I, J, N
	T2	11	B, D, E, F, H, I, J, K, L, N, O
	T3	7	B, C, E, F, J, K, L
	T4	6	C, E, F, J, H, M
Bioreaktor kontrol (tanpa <i>E. indica</i> )	T0	4	P, Q, R, S
	T1	5	P, R, S, T, U
	T2	5	P, Q, R, S, T
	T3	4	P, Q, S, T
	T4	5	P, Q, S, T, U

menggunakan rumput dikarenakan rumput *E. Indica* mampu mengeluarkan eksudat akar berupa senyawa-senyawa organik, asam amino dan jenis gula tertentu yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi bagi bakteri.

TABEL 2: Isolat Bakteri Hidrokarbon yang Lolos Seleksi Tahap I dan II

Asal Sampel	Tahap Seleksi			Keterangan
	Sebelum	I	II	
Bioreaktor perlakuan (ditanami <i>E. indica</i> )	15	14	9	B, D, E, F, H, I, J, L, N
Bioreaktor kontrol (tanpa <i>E. indica</i> )	6	6	4	P, R, S, U
Jumlah	21	20	13	

21 isolat bakteri yang memiliki ciri koloni yang berbeda yang berasal dari 2 bioreaktor diseleksi tahap I sehingga diketahui hanya 1 isolat yang tidak tumbuh, hal ini menunjukkan bahwa 20 isolat bakteri mampu bertahan pada kondisi lingkungan yang mengandung senyawa hidrokarbon dan 1 isolat yang berasal dari bioreaktor yang ditanami *E. indica* tidak mampu tumbuh dan bertahan pada kondisi lingkungan yang mengandung senyawa hidrokarbon. Pada tahapan seleksi tahap II ini jumlah isolat yang lolos adalah sebanyak 13 isolat bakteri. Masing-masing 9 isolat yang berasal dari bioreaktor yang ditanami *E. Indica* dan 4 isolat bakteri yang berasal dari bioreaktor tanpa *E. indica*.

Selanjutnya isolat yang lolos pada seleksi tahap II dikarakterisasi dan diidentifikasi. Isolat bakteri yang diperoleh 4 isolat dari bioreaktor tanpa *E. Indica* merupakan kelompok genus *Azotobakter*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, dan *acetobacter*. Sedangkan dari bioreaktor yang ditanami *E. Indica* didapatkan

9 isolat bakteri yang dapat dikelompokkan kedalam 5 genus yaitu *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Mycobacterium* dan *Acinetobacter*.

## 4 KESIMPULAN DAN SARAN

### 4.1 Kesimpulan:

Dari hasil penelitian diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Jumlah Bakteri pada bioreactor yang ditanami *E. Indica* lebih tinggi dibanding pada bioreactor tanpa *E. indica*
2. Hasil Seleksi , karakterisasi dan identifikasi. diperoleh 4 Isolat bakteri pada bioreaktor tanpa *E. Indica* yang dapat dikelompokkan menjadi 4 genus yaitu *Azotobakter*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, dan *acetobacter*. Sedangkan dari bioreaktor yang ditanami *E. Indica* diperoleh 9 isolat bakteri yang dapat dikelompokkan kedalam 5 genus yaitu *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Mycobacterium* dan *Acinetobacter*.

### 4.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian uji lanjut mengenai kemampuan masing-masing isolat bakteri dalam mende-gradasi jenis-jenis minyak bumi sehingga dapat diper-

oleh isolat bakteri yang berperan dalam setiap tahapan fitoremediasi limbah minyak bumi menggunakan rumput belulang (*Eleusine indica* (L.) Gaertn).

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih pada program penelitian Hibah Strategis Nasional Universitas Sriwijaya Tahun 2009 atas dana penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Priyanto, B. dan J. Prayitno, 2000, Fitoremediasi sebagai sebuah teknologi pemulihan pencemaran khususnya logam berat, 20 hlm., *www.google.co.id.*, Tanggal 20 Juli 2008
- [2] Alexander, M., 1977, *Introduction to Soil Microbiology*, Edisi II, Jhon Wiley and Sons, Toronto, 467 hlm.
- [3] Yulianti, R., 2009, Uji Kemampuan Beberapa Jenis Rumput dalam Fitoremediasi Limbah Minyak Bumi PT. Pertamina UBEP Limau Prabumulih Sumatera Selatan, *Skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, 48 hlm.
- [4] Munawar, 1999, Bioremediasi Invitro Limbah Industri Pengilangan Minyak Bumi Oleh Bakteri Hidrokarbonoklastik, *Jurnal Penelitian Sains*, No.6: 44-49 hlm.
- [5] Widjajanti, H., 2007, Bioremediasi Sebagai Upaya Penanggulangan Pencemaran Minyak, *Program Studi Ilmu Pertanian Program Pascasarjana*, Universitas Sriwijaya, Palembang
- [6] Merkl, N. dan R. Schultze-Kraft, 2004, Phytoremediation in the Tropics-The Effect io Crude Oil on the Growth of Tropical Plants, *Bioremediation Journal*, 8(3-4) 177-184 —