

POTENSI BAKTERI LAUT DARI PERAIRAN MAKASSAR SEBAGAI PENGHASIL EMULSAN SELAMA PERTUMBUHAN PADA SUBSTRAT HIDROKARBON PETROLEUM

Dirayah Rauf Husain

Jurusan Biologi – FMIPA Universitas Hasanuddin

ABSTRAK

Potensi isolat bakteri laut dari perairan laut Makassar sebagai penghasil emulsan selama biodegradasi hidrokarbon petroleum telah dilakukan. Pengujian dilakukan dengan menggunakan supernatan hasil sentrifugasi dari kultur isolat bakteri berumur hingga 350 jam. Digunakan hidrokarbon petroleum jenis Angsi sebesar 1% sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi. Pengujian dilakukan masing-masing pada fase eksponensial, fase stationer dan fase kematian. Kemampuan emulsifikasi ditunjukkan dari hasil pengukuran serapan pada spektrofotometer dari supernatan yang ditambahkan heksadekana murni sebanyak 1% dan dikocok selama 2 menit. Diperoleh kemampuan emulsifikasi yang meningkat seiring melajunya pertumbuhan isolat bakteri yaitu sebesar 0,086 sampai 0,301. Hasil jauh lebih rendah apabila menggunakan sumber karbon Na-Asetat yaitu antara 0,005 – 0,032.

Kata kunci: bakteri laut, biodegradasi, petroleum, emulsifikasi, biosurfaktan

1. PENDAHULUAN

Pencemaran pada perairan dan daratan oleh hidrokarbon yang bersumber dari minyak bumi menjadi perhatian utama dalam usaha peningkatan kualitas lingkungan dan kesehatan manusia (Rodriguez-Martinez *et al*, 2006). Eliminasi bahan pencemar tersebut dapat dilakukan baik secara fisiko-kimiawi, maupun biologi (Okoh, A.I., 2006). Secara fisiko-kimiawi dapat dengan penjaringan lapisan minyak dan atau penambahan bahan kimia sebagai bahan pengemulsi. Namun cara tersebut tidak efisien karena dapat menghasilkan produk sampingan berbahaya. Penanggulangan secara mikrobiologis diakui lebih aman karena melibatkan proses biodegradasi (Atlas, 1991). Oleh karena hidrokarbon memiliki solubilitas yang rendah dalam air, maka hal tersebut menjadi pembatas dalam proses biodegradasi. Biodegradasi hidrokarbon minyak bumi sangat terbatas karena sifatnya yang tidak dapat larut dalam air, sehingga ketersediaannya untuk digunakan sel mikroba pula akan terbatas.

Studi tentang biodegradasi hidrokarbon petroleum menunjukkan keberadaan suatu senyawa yang berasosiasi pada proses tersebut yang dapat meningkatkan dispersi hidrokarbon. Senyawa tersebut memiliki sifat tension aktif yang dinamakan surfaktan mikroba atau biosurfaktan (Rosenberg, 1992; Bertrand *et al*. 1993; Zhang dan Miller, 1994).

Biosurfaktan yang diproduksi oleh mikroorganisme berperan dalam proses emulsifikasi dan atau solubilisasi hidrokarbon yang memungkinkan terjadinya kontak antara sel mikroorganisme dan senyawa hidrokarbon minyak bumi yang bersifat

hidrofobe sebagai substrat (Goswami & Singh, 1990; Husain, *et al.*, 1997; Christova *et al.*, 2004). Biosurfaktan terdiri atas molekul hidrofobik dan hidrofilik yang memungkinkan biosurfaktan dapat menurunkan tegangan permukaan dan interfase antara hidrokarbon dan air (Inakullo *et al.*, 2004).

Pada penanganan limbah hidrokarbon perlakuan dengan penambahan surfaktan sintesis sering dilakukan untuk memungkinkan terjadinya emulsifikasi. Kondisi tersebut sangat diharapkan untuk memudahkan mikroorganisme mengasimilasi senyawa tersebut. Biosurfaktan selain sebagai pengemulsi dalam proses biodegradasi juga diketahui digunakan dalam berbagai industri (Bertrand *et al.*, 1993; Makkar dan Rockne, 2003).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan emulsifikasi senyawa ekstraseluler isolat bakteri laut bersifat gram negatif yang memiliki kemampuan biodegradasi petroleum cenderung tinggi selama pertumbuhannya (Husain dan Budi 2009). Bahwa potensi tersebut dapat dimanfaatkan dalam berbagai industri yang membutuhkan bahan pengemulsi yang ramah lingkungan, misalnya industri cat, deterjen, obat-obatan, kosmetik, dan lain-lain (Karanth, dan Veenanadig, 2005).

2. METODE PENELITIAN

Bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri yang telah diisolasi sebelumnya dari sediment perairan pelabuhan laut Paotere, Makassar, Sulawesi Selatan dan telah melalui uji kemampuan biodegradasi terhadap hidrokarbon petroleum secara *in vitro*. (Husain dan Budi 2009). Hidrokarbon yang digunakan sebagai substrat adalah petroleum jenis Angsi (China) dari Pertamina Wilayah Balikpapan dan hidrokarbon alkana murni Eicosana ($C_{20}H_{42}$) (Merck) sebanyak 2% v/v serta substrat kontrol Na-asetat 2 gram/l. Digunakan air laut sintetik (Baumann, P & Baumann, L., 1981) yang mengandung: Tris hydroxy-methyl-amino-methane, NaCl, KCl, CaCl₂, H₂O, NH₄Cl, MgSO₄·7H₂O, MgCl₂, NaOH, HCl, KH₂PO₄, K₂HPO₄, FeSO₄, H₂SO₄.

Peremajaan pada medium Nutrin cair dan prakultur dengan substrat masing-masing yang digunakan. Masing-masing kultur diambil satu (1) ml pada setiap interval pengamatan pada beberapa fase pertumbuhan untuk pengukuran pertumbuhan dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 450 nm. Selanjutnya nilai densitas optik dari hasil pengukuran diplot pada kertas

semilogaritma. Waktu generasi yang merupakan waktu yang dibutuhkan oleh bakteri untuk membelah juga dihitung dengan menggunakan kurva pertumbuhan tersebut.

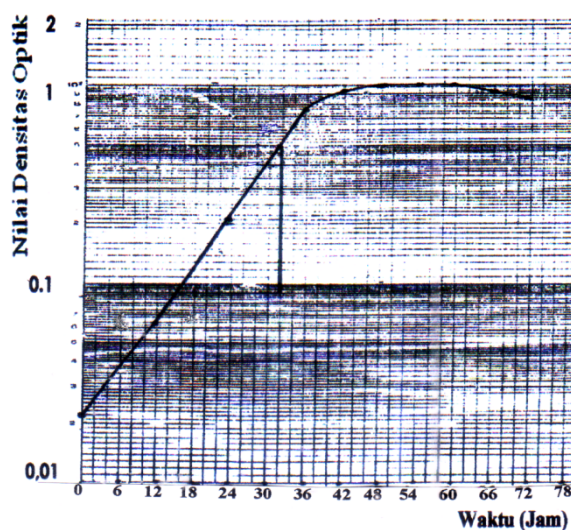
Sebanyak 10 ml kultur yang telah dibuat (petroleum, eicosane, dan natrium asetat), disentrifugasi pada kecepatan 8000 rpm selama 10 menit. Supernatan kemudian difiltrasi pada filter 0,45 μm . Filtrat tersebut ditambahkan 2% v/v ml hexadecane dan divortex selama 5 menit. Selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang 610 nm selama ± 180 menit dengan interval reguler. Nilai serapan yang stabil tersebut selama pengukuran 120 menit menunjukkan kemampuan emulsifikasi (Roy *et al*, 1979).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran pertumbuhan yang dilakukan pada ke tiga (3) kultur yaitu dengan substrat Na-Asetat, minyak bumi, eikosana dan selanjutnya diplot pada kertas semilogaritma dihasilkan kurva pertumbuhan serta waktu generasi yang dibutuhkan oleh isolat bakteri untuk membelah dari satu sel menjadi dua sel (Prescott *et al.*, 2005; Husain, 2007).

3.1. PERTUMBUHAN BAKTERI PADA SUBSTRAT NA-ASETAT

Dari kurva pertumbuhan pada gambar 1 nampak selang 12 jam setelah inkubasi, pertumbuhan bakteri langsung memasuki fase eksponensial dengan densitas optik (DO) 0,077.



Gambar 2. Kurva pertumbuhan bakteri pada substrat eicosana

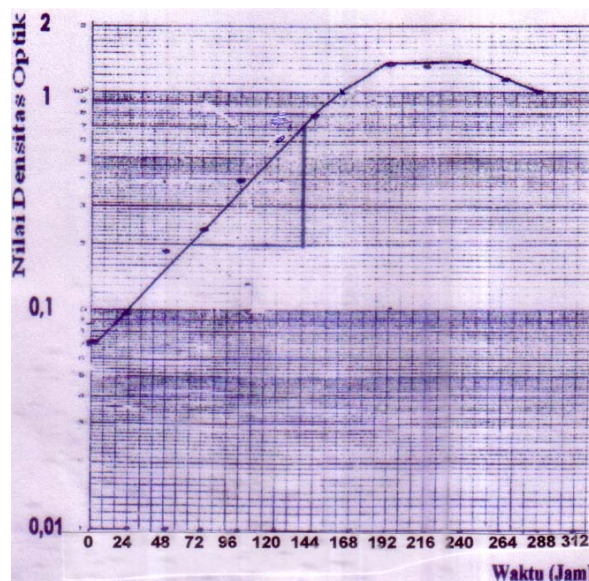
Selanjutnya memasuki fase eksponensial selama 42 jam dengan nilai DO hingga 0,921 Kultur memasuki fase diperlambat dengan mencapai D.O 0,959 untuk memasuki fase stasioner berselang waktu 12 jam. Fase ini terjadi pada waktu inkubasi 48 jam sampai 60 jam dengan nilai DO yang cenderung sama yaitu 1. Selanjutnya kultur memasuki fase kematian dengan nilai DO 0,921 dan turun hingga 0,854.

3.2. PERTUMBUHAN BAKTERI PADA SUBSTRAT EIKOSANA

Pada substrat eicosane dilakukan pengamatan pertumbuhan dengan interval 24 jam (1 hari) selama 288 jam (12 hari). Hasilnya nampak pada gambar 2.

Pada kurva pertumbuhan nampak setelah inkubasi 24 jam nilai DO awal 0,097. Selanjutnya kultur langsung memasuki fase eksponensial sampai pada waktu inkubasi 168 jam dengan nilai DO 1, selanjutnya sampai 192 jam nilai DO meningkat menjadi 1,398 untuk masuk fase perlambatan dan kemudian masuk fase stasioner.

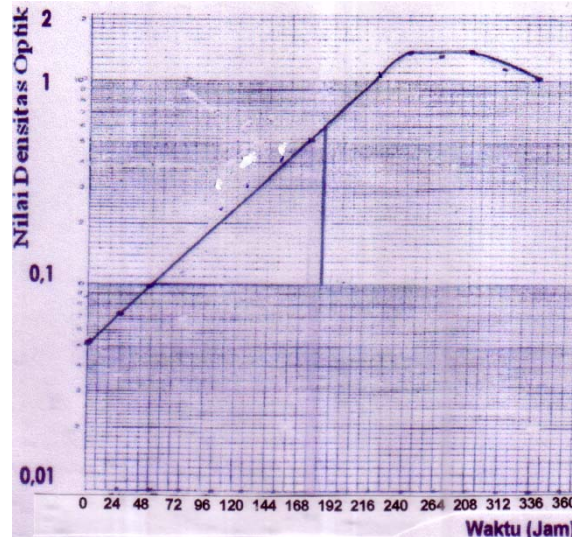
Selanjutnya masuk fase kematian sampai 240 jam dengan nilai DO yang menurun yaitu 1,398. Dari kurva pertumbuhan diatas diperoleh waktu generasi (g) 72 jam.



Gambar 3. Kurva pertumbuhan bakteri pada substrat petroleum

3.3. PERTUMBUHAN BAKTERI PADA SUBSTRAT PETROLEUM

Pada kultur ini pengukuran pertumbuhan dilakukan selama 14 hari (336 jam) dengan interval 24 jam hasilnya dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Kurva pertumbuhan bakteri pada substrat petroleum

Dari kurva pertumbuhan nampak bahwa setelah inkubasi 24 jam pada DO awal 0,071, kultur langsung memasuki fase eksponensial sampai 240 jam dengan DO 1,212. Selanjutnya kultur memasuki fase perlambatan dengan DO hingga 1,350. Saat kultur berumur dari 240 jam sampai 288 jam, kultur memasuki fase stasioner dengan nilai DO meningkat menjadi 1,398. Memasuki waktu inkubasi 312 jam kultur memasuki fase kematian dengan nilai DO 1,155 sampai 336 jam. Waktu generasi diperoleh sebanyak 128 jam.

3.4. UJI EMULSIFIKASI

Pengambilan sampel untuk uji emulsifikasi pada ke tiga substrat, dilakukan berdasarkan kurva pertumbuhan bakteri pada ke 3 (tiga) fase pertumbuhan bakteri yaitu fase eksponensial, fase stasioner, dan fase kematian. Pada tiap fase tersebut dilakukan dua kali pengambilan sampel.

3.4.1. UJI EMULSIFIKASI PADA KULTUR NA-ASETAT

Pada kultur Na-asetat didapatkan nilai uji emulsifikasi yang berbeda tiap fase, hasilnya tertera pada Tabel 1. Pada fase eksponensial diperoleh nilai uji emulsifikasi 0,018 untuk T1 dan pada

T_2 diperoleh 0,032. Selanjutnya masuk pada fase stasioner dan untuk selanjutnya masuk fase kematian dengan DO yang menurun hingga 0,027 seiring berkurangnya jumlah sel.

Nilai uji emulsifikasi yang paling rendah yaitu 0,032 jika dibandingkan dengan eicosane dan petroleum. Hal ini disebabkan karena natrium asetat merupakan medium minima yang dapat digunakan oleh semua bakteri yang bersifat heterotrof dan dapat larut dalam air.

Tabel 1. Nilai uji emulsifikasi pada kultur Na-asetat

Fase	Pengambilan	Densitas Optik
Eksponensial	1	0,005
	2	0,018
Stasioner	3	0,018
	4	0,032
Kematian	5	0,032
	6	0,027

3.4.2. UJI EMULSIFIKASI PADA KULTUR EICOSAN

Pada kultur eicosan didapatkan nilai uji emulsifikasi yang juga berbeda pada tiap fase pertumbuhan. Pada fase eksponensial dalam pengambilan pertama (T_1) didapatkan nilai DO 0,061 dan pada pengambilan kedua didapatkan 0,119. Nilai emulsifikasi kultur pada berbagai fase pertumbuhan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai uji emulsifikasi pada kultur eicosane

Fase	Pengambilan	Densitas Optik
Eksponensial	T_1	0,061
	T_2	0,119
Stasioner	T_1	0,076
	T_2	0,086
Kematian	T_1	0,222
	T_2	0,125

Pada awal fase stasioner nilai emulsifikasinya menurun menjadi antara 0,076 - 0,086 untuk selanjutnya meningkat menjadi 0,222 pada awal fase kematian.

Nilai uji emulsifikasi pada eicosan lebih tinggi jika dibandingkan dengan Na-asetat. Eicosan merupakan hidrokarbon murni yang termasuk anggota parafin dengan rumus kimiawi $C_{20}H_{42}$ (Watkinson, 1990). Hidrokarbon menjadi satu-satunya sumber karbon dan energi bagi sel bakteri memenuhi keperluan untuk biosintesis dari bakteri tersebut. Oleh hidrofobisitas dari hidrokarbon sebagai substrat maka bakteri mengembangkan strategi dengan mengekskresi biosurfaktan (Desai dan Desai 1993; Rosenberg dan Rosenber, 1993). Kemampuan bakteri dalam menghasilkan senyawa pengemulsi dengan eicosan sebagai substrat pertumbuhan telah dilakukan sebelumnya dengan menggunakan isolat dari daerah subtropis. Bahwa emulsifikasi lebih tinggi dibanding menggunakan Na-asetat (Husain, *et. al.*, 1997).

3.5. Uji Emulsifikasi Bakteri pada kultur Petroleum

Hasil uji emulsifikasi dengan substrat ini pula berbeda pada tiap fase yaitu pada fase eksponensial diperoleh antara 0,086 dan 0,301 sedangkan pada stasioner diperoleh antara 0,301 dan 0,337. Memasuki fase kematian nilai tersebut cenderung dipertahankan yaitu antara 0,301 dan 0,31. Nilai emulsifikasi pada berbagai fase pertumbuhan tertera pada Tabel 3.

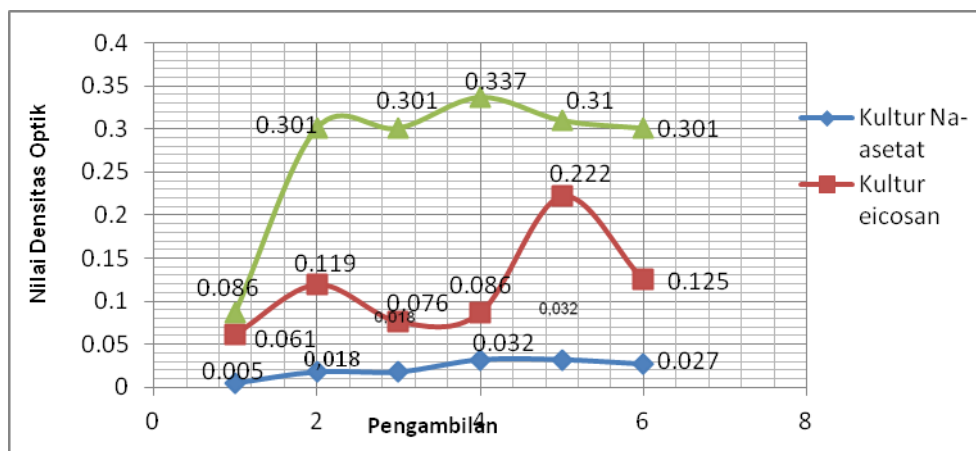
Tabel 3. Nilai uji emulsifikasi pada kultur petroleum

Fase	Pengambilan	Densitas Optik
Eksponensial	T ₁	0,086
	T ₂	0,301
Stasioner	T ₁	0,301
	T ₂	0,337
Kematian	T ₁	0,310
	T ₂	0,301

Adanya kemampuan emulsifikasi pada kultur dengan substrat hidrokarbon seperti eicosane dan petroleum yaitu berturut-turut 0,222 dan 0,337, mengindikasikan bahwa isolat bakteri mensekresi senyawa ekstraselular yang bersifat tensio aktif. Kemampuan dari berbagai isolat bakteri seperti tersebut telah dibuktikan oleh beberapa ahli dengan isolat yang berasal dari

daerah subtropis (Husain et al. 1997; Bertrand et al. 1993, yang digunakan memiliki potensi sebagai isolat pendegradasi hidrokarbon petroleum dan penghasil biosurfaktan. Eicosane (alkana rantai lurus) dengan rumus kimiawi $C_{20}H_{42}$ merupakan hidrokarbon murni. Petroleum terdiri dari campuran dari berbagai hidrokarbon dan alkana berantai lurus lebih mudah dipecah oleh mikroorganisme dibandingkan rantai bercabang.

Hidrokarbon bersifat hidrofobe, sehingga untuk memperoleh karbon tersebut, sel bakteri harus menggunakan strategi tertentu untuk dapat memperolehnya (*accessible* terhadap sel bakteri). Kemampuan mengeluarkan biosurfaktan diketahui sebagai salah satu dari strategi tersebut untuk menurunkan tegangan permukaan antara air dengan eicosane (Goswami dan Singh, 1990; Husain *et al.* 1997). Oleh karena hidrofobisitas sel menyebabkan sel tersebut menunjukkan aktivitas emulsifikasi yang lebih baik dan mampu menurunkan tegangan permukaan supernatan kultur secara signifikan dibanding sel yang ditumbuhkan pada substrat Na-asetat (Desai dan Desai 1993).



Gambar 4. Emulsifikasi dari isolat bakteri pada kultur Na-asetat, eicosane dan petroleum selama fase eksponensial, fase stasioner, fase kematian.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa:

- 1) Pertumbuhan bakteri pada substrat Na-asetat memiliki waktu generasi 16 jam, sedangkan substrat eicosan 72 jam dan petroleum 128 jam.
- 2) Kemampuan emulsifikasi dari senyawa yang dihasilkan isolat bakteri paling tinggi selama pertumbuhan pada substrat petroleum yaitu 0,337, sedangkan pada substrat eicosan 0,222 dan cenderung tidak diperoleh aktifitas emulsifikasi selama pertumbuhan pada Na-asetat.

Penghargaan:

Artikel ini merupakan bagian dari hasil penelitian yang didanai oleh Penelitian HIBAH KOMPETITIF PENELITIAN SESUAI PRORITAS NASIONAL Bacth IV TAHUN ANGGARAN 2009, Nomor 514/SP2H/PP/DP2M/V/2009/tanggal 21 Juli 2009.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Atlas, R.M., 1991, Microbial Hydrocarbon Degradation-Bioremediation of Oil Spill, University of Louisville, Kentucky, USA. Review 52:149-156.
- [2] Bertrand, J.C., Bonin, P., Goutx, M. & Mille, G. 1993. Biosurfactant production by marine microorganisms. Potential application to fighting hydrocarbon marine pollution. *Journal of Marine Biotechnology* 1, 125-129.
- [3] Christova, N.; B. Tuleva; Nikolova-Damyanova, B. 2004. Enhanced hydrocarbon Biodegradation by a newly isolated *Bacillus subtilis* strain. *Z. Naturforsch.* 59 C. 205-208.
- [4] Desai JD and Desai AJ, 1993. Production of Biosurfactants. In: *Biosurfactant: Production, Properties, Application*. N.Kosaric (ed), Marcel Dekker Inc., New York, 66-97.
- [5] Husain, D. R. Goutx, M., Acquaviva, M. & Bertrand, J.C. 1997. The effect of temperature on eicosane substrate uptake modes by marine bacterienne *Pseudomonas nautica* strain 617. Relation with the biochemical contents of cells and supernatans. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 1997.
- [6] Husain, D. R., 2006. Karakteristik Pertumbuhan bakteri laut *Pseudomonas nautica* 617 pada substrat hidrokarbon Tetradekana, *Jurnal Penelitian Hayati*, Lembaga Penelitian Unhas, 9 no. 1
- [7] Husain, D. R. dan P. Budi 2009. Produksi dan Penggunaan Biosurfaktan pada Biodegradasi Hidrokarbon oleh Bakteri Laut dari Perairan Pelabuhan Makassar. Penelitian Hibah Bersaing 2009. DP2M – Dikti.
- [8] Inokollu, S., H.C. Hung dan Gina S.Shreve, 2004. Biosurfaktant Enhancement of microbial gedradation of various structural classes of hydrocarbon in mixed waste system. *Environmental Engineering Sciences*. Vol. 21. No,4.
- [9] Karanth, N.G.K., P.G.Deo, dan N.K.Veenanadig, 2005. Microbial production of biosurfactants and their importance, Department of Biochemistry, India
- [10] Okoh, I.A. 2006. Biodegradation alternative in the cleanup of petroleum hydrocarbon pollutants. *Biotechnology and Molecular Biology Review*. Vol. 1 no. 2 p. 38-50

- [11] Prescott L.M.; J.P. Harley; D.A. Klei., 2005. Microbiology Sixth edition. Mc Graw Hill Book.
- [12] Rodriguez-Martinez, E.M. E.X. Perez, W.Schadt., J. Zhou., A.A. Massol-Day, 2006. Microbial diversity and Bioremediation of a hydrocarbon contaminated Aquifer (vega Baja, Puerto Rico). Int. J. Environ. Res. Public Health, vol. 3. No.3. p 292-300.
- [13] Roy, P.K., Singh, H.D., Bhagat, S.D., J.N. 1979. Characterization of hydrocarbon emulsification and solubilizing occurring during the growth of *Endomycopsis lipolytica* on hydrocarbons. *Biotechnology and Bioengineering* **21**, 955-974.
- [14] Watkinson, R. J., dan M. Philip, 1990, Physiology Of Alifatic Hidrokarbon Degrading Microorganisms. Kluwer Academic Publisher. Printed In The Netherland.
- [15] Zhang, Y., dan Miller, R. M., 1997, Effect of a Pseudomonas Rhamnolipid Biosurfactant on Cell Hydrophobicity and Biodegradation of Octadecana, Applied And Environmental Microbiology Vol.60, No.6, p. 2102-2106.

[KEMBALI KE DAFTAR ISI](#)