

Eksplorasi Bakteri Hidrokarbonoklastik dari Rhizosfer di Lahan Tambang Minyak Rakyat, Kecamatan Babat Toman, Sumatera Selatan

DWI HARDESTYARIKI¹, BAMBANG YUDONO², DAN MUNAWAR³

¹Mahasiswa Pengelolaan Sumber Daya Alam Pascasarjana Universitas Sriwijaya; ²Staf Pengajar Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya; ³Staf Pengajar Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sriwijaya

Abstract: This study aims to obtain rhizosphere bacteria as a potential agent of bioremediation. The method of sampling the plant rhizosphere by purposive sampling. Soil samples were taken from around the rhizosphere of plants that live in soil contaminated oil. Bacteria were isolated from the rhizosphere soil samples, then they were selected into steps : performed purification, selection I and selection II. The among bacteria are tested the synergism, then characterized and identified it's genus. The results showed that there were as many as 34 rhizosphere bacterial isolates were collected from three different sampling locations. Identification of bacteria that have potential as a bioremediation agent. Each bacterial isolate was identified as *Sporosarcina* sp. A.4.10, *Proteus* sp. C.6.7, *Actinobacillus* sp. A.6.3, and *Flavobacterium* sp. A.5.8.

Keywords: exploration, hydrocarbonoclastic, rhizosphere

E-mail: dhardestyariki@yahoo.co.id, yudonob@hotmail.com, mu_na_war@yahoo.com

1 PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang kaya akan sumber daya alam, baik yang dapat diperbaharui maupun yang tidak dapat diperbaharui. Salah satu sumber daya alam yang dimiliki adalah berupa tambang minyak yang merupakan golongan sumber daya alam yang tidak dapat diperbaharui (Priyanto, 2010). Tambang minyak tersebut salah satunya berada di Kecamatan Babat Toman, Sumatera Selatan. Eksploitasi di daerah tersebut telah dilakukan sejak lama. Sumur-sumur minyak yang ada merupakan bekas peninggalan Belanda, dan sebagian sumur-sumur minyak itu dikelola oleh masyarakat lokal. Pengetahuan masyarakat mengenai tambang berbasis lingkungan masih sangat minim. Dalam aktivitas penambangannya banyak limbah yang tercecer dan mencemari lingkungan disekitarnya.

Tumpahan minyak merupakan polutan yang dapat mengganggu ekosistem pada wilayah yang terkontaminasi. Salah satu cara untuk memulihkan lingkungan yang tercemar minyak adalah dengan menggunakan teknik bioremediasi. Bioremediasi merupakan salah satu cara yang kerap digunakan untuk mengatasi pencemaran minyak pada suatu lingkungan. Bioremediasi adalah proses penguraian limbah (pencemar) menggunakan agen biologis (mikroba) yang dilakukan dalam kondisi terkendali. Biodegradasi polutan dalam proses bioremediasi merupakan proses yang kompleks dan sangat

bergantung pada kondisi lingkungan, jumlah polutan serta komposisi komunitas mikroba lokal (*indigenous*) di tempat tersebut (Komarawidjaja & Lysiastuti, 2009).

Rhizosfer adalah selapis tanah yang menyelimuti permukaan akar tanaman yang masih dipengaruhi oleh aktivitas akar. Rhizosfer merupakan habitat yang sangat baik bagi pertumbuhan mikroba oleh karena akar tanaman menyediakan berbagai bahan organik yang umumnya menstimulir pertumbuhan mikroba (Sumarno, 2010). Tanaman memiliki kontribusi dimana tanaman dapat mengeluarkan material organik seperti asam-asam amino, asam keto, vitamin, gula, tannin, alkaloid, fosfat, oksalat, sitrat, enzim dan substansi lainnya melalui akar yang disebut dengan eksudat akar. Populasi mikroba di rhizosfer tanaman memberikan keuntungan seperti perombakan nutrien, sintesis vitamin, asam amino, auksin, dan giberelin yang berfungsi sebagai penstimulasi pertumbuhan tanaman (Atlas & Bartha, 1992)

Pada rhizosfer yang tercemar minyak dapat dilakukan pengamatan terhadap bakteri-bakteri yang mempunyai potensi dalam mendegradasi minyak. Hal ini dikarenakan, rhizosfer mampu meningkatkan aktivitas enzimatik dan populasi bakteri. Pertumbuhan mikroba di perakaran akan naik 2 kali lipat dan adanya jenis mikroba yang lebih efektif dalam mendegradasi polutan, khususnya di

daerah yang tercemar hidrokarbon (Priyanto, 2010).

Mikroba yang bekerja dalam proses biodegradasi di tanah tercemar minyak terdiri atas beberapa jenis mikroba yang bekerja saling sinergis. Untuk mendapatkan jenis-jenis mikroba tersebut, tahap awal yang harus dilakukan adalah mengisolasi mikroba indigen di sekitar rhizosfer tanaman yang hidup pada lahan penambangan minyak bumi. Pada penelitian ini dilakukan eksplorasi mikroba yang berasal dari rhizosfer tercemar minyak sehingga pada nantinya dapat digunakan sebagai agen bioremediasi dalam mengatasi pencemaran minyak yang terjadi di lahan penambangan minyak bumi.

2 METODOLOGI

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah autoclave, bilik hitung, botol vial, bunsen, buret, cawan petri, colony counter, corong pemisah, erlenmeyer, gelas ukur, hot plate, inkubator, jarum ose, kaca penutup, magnetik stirrer, pipet serologis, pipet tetes, shaker, spatula, tabung reaksi dan timbangan.

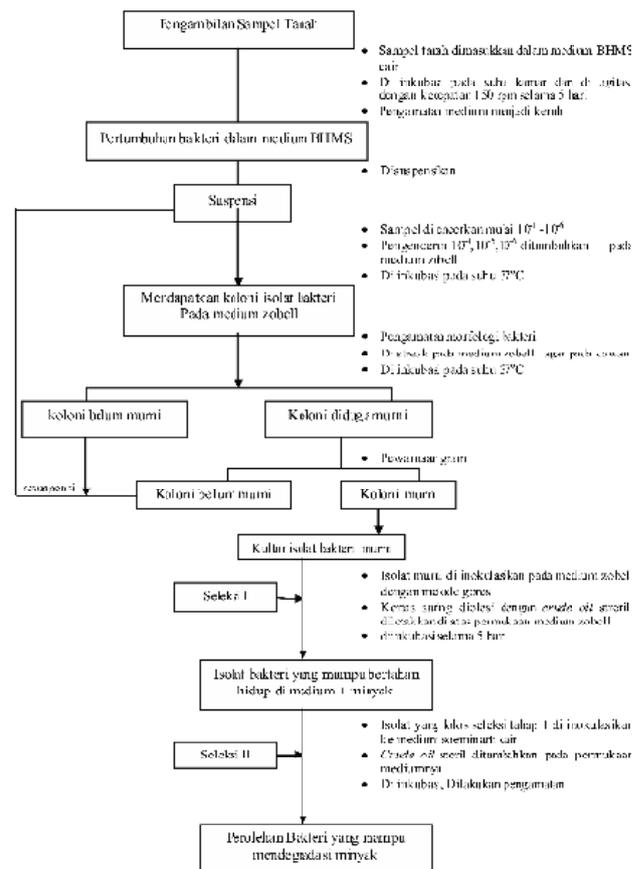
Bahan bahan yang diperlukan yaitu alkohol, aquades, garam fisiologis, medium uji yaitu medium *Bushnell-Hass Mineral Salt* (BHMS) cair sebagai medium pengayaan, medium Soeminarti cair sebagai medium seleksi tahap II, medium Zobell agar sebagai medium isolasi, pemurnian dan seleksi tahap I, medium *Sulfide-Indol-Motility* (SIM) agar, medium *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), medium Indol, Medium *Simmon's Citrate Nutrient Agar*, Medium MR-VP, *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), *Nutrient Gelatin*, Agar Pati, *Urease Broth*, Medium MR-VP, Phenol ptalin, reagen karakterisasi (Barrit's A & B, H₂O₂ 3%, Iodine, kovac's dan metil merah), sampel tanah, dan spritus.

Pengambilan Sampel Tanah dari Rhizosfer Tanaman

Lokasi pengambilan sampel secara *purposive sampling*. Tanaman yang dipilih sebagai sumber bakteri rhizosfer adalah berasal dari tanaman dominan di area lahan penambangan minyak. Sampel tanaman tersebut kemudian diidentifikasi jenisnya. Pengambilan sampel tanah dilakukan pada 4 titik di rhizosfer tanaman. Sebanyak 0,5 – 1 kg sampel tanah dari masing-masing titik pengambilan lalu dikompositkan. Sampel tanah diambil dari jarak yang paling dekat dengan akar tanaman yaitu pada kedalaman 15 cm (Purwaningsih, 2009).

Tahap Pengayaan

Sampel tanah dari rizosfer tanaman diambil sebanyak 5 g, kemudian dimasukkan ke dalam erlemeyer yang berisi 45 ml BHMS cair, selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar dan diagitasi dengan kecepatan 150 rpm selama 5 hari atau sampai menunjukkan pertumbuhan yang dicirikan campuran limbah dan medium BHMS berubah menjadi keruh (Munawar 1999). Tahapan selanjutnya untuk mendapatkan isolat bakteri hidrokarbonoklastik ialah dilakukan isolasi, pemurnian, seleksi I dan seleksi II yang dapat dilihat pada Gambar 1. Tahap Isolasi, Pemurnian, dan Seleksi Bakteri.



Gambar 1. Skema Tahap Isolasi, Pemurnian, dan Seleksi Bakteri

Uji Sinergis Isolat Bakteri Hidrokarbonoklastik

Isolat bakteri yang lolos seleksi tahap 2 dilakukan pengujian sinergis antara masing-masing isolat bakteri yang didapat. Masing-masing isolat bakteri dibuat inokulumnya dengan cara satu ose biakan bakteri diambil menggunakan jarum ose kemudian dimasukkan ke dalam medium cair (*Nutrient broth*) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Media padat (*Nutrient agar*) disiapkan untuk menguji isolat bakteri di dalam cawan petri dengan cara memasukkan paper disk yang terlebih dahulu dice-

lupkan ke dalam inokulum bakteri. Sebanyak 0,1 ml inokulum bakteri 1 diratakan pada permukaan media agar dengan menggunakan *drygal sky*, sedangkan isolat bakteri lainnya ditempelkan pada permukaan agar dengan menggunakan paper disk yang dicelupkan ke dalam inokulum yang telah dibuat. Masing-masing isolat dilakukan hal yang sama seperti isolat bakteri 1 sehingga dapat diketahui bakteri yang bersifat sinergis dan antagonis. Lalu di inkubasi dan dilakukan pengamatan terhadap pertumbuhan masing-masing isolat tersebut. Isolat yang bersifat sinergisme, ditunjukkan dengan tidak terbentuknya zona hambat (Silitonga *et al.*, 2013).

Karakterisasi dan Identifikasi

Isolat bakteri hidrokarbonoklastik selanjutnya di karakterisasi dengan tujuan untuk mempermudah identifikasi. Karakterisasi dilakukan terhadap : morfologi koloni pada berbagai bentuk media agar (miring, tegak, dan lempeng), morfologi sel (sifat gram bakteri dan pewarnaan endospora), sifat-sifat fisiologis (fermentasi gula, hidrolisa pati, hidrolisa gelatin, uji indol, uji metil merah, uji voges-proskauer, uji sitrat, uji H₂S, uji hidrolisis urea, uji katalase, dan uji motilitas. Berdasarkan karakter dari masing-masing isolat bakteri yang mampu mendegradasi hidrokarbon diidentifikasi dengan menggunakan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 8th edition* dan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th edition* dan dibuat dendrogram yang menggambarkan hubungan similaritas dengan menggunakan program statistik cluster (Buchanan & Gibbons, 1974).

3 HASIL DAN PEMBAHASAN

Jenis Tanaman di Lahan Penambangan Minyak Bumi

Pengambilan sampel tanah di sekitar rhizosfer tanaman dilakukan pada 3 lokasi sampling yang berbeda. Pada lokasi sampling pertama terdapat tanaman jenis *Scleria sp.*, *Axonopus sp.*, *Fimbristylis sp.*, dan *Melastoma sp.* tanaman yang memiliki jumlah paling banyak adalah *Scleria sp.* dengan indeks dominansi sebesar 0,23. Pada lokasi sampling kedua ditemui tanaman *Clidemia sp.*, *Melastoma sp.*, dan *Alstonia sp.* tanaman yang jumlahnya paling banyak adalah *Clidemia sp.* dengan indeks dominansi sebesar 0,28. Pada lokasi sampling ketiga didapatkan tanaman *Panicum sp.*, *Fimbristylis sp.*, *Cyperus sp.*, *Kyllinga sp.*, dan *Carex sp.*, *Mallotus sp.*, dan *Erechtites sp.* Tanaman yang jumlahnya paling banyak adalah *Panicum sp.* dengan nilai indeks dominansi sebesar 0,354. Nilai indeks dominansi masing-masing tanaman pada 3 lokasi sampling selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Menurut Mawazin & Subiakto (2013) indeks dominansi jenis (C) menggambarkan pola dominansi suatu jenis terhadap jenis lainnya dalam komunitas suatu tegakan. Nilai C berkisar antara 0-1, di mana semakin tinggi nilai C menggambarkan pola penguasaan terpusat pada jenis-jenis tertentu saja atau dengan kata lain komunitas tersebut lebih dikuasai oleh jenis-jenis tertentu saja, sebaliknya semakin rendah nilai C menggambarkan pola penguasaan jenis-jenis dalam komunitas tersebut relatif menyebar pada masing-masing jenis.

Tabel 1. Jenis Tanaman yang Terdapat di Sekitar Sumur Minyak

Lokasi Sampling	Jenis Tanaman	Famili Tanaman	Jumlah Tanaman	Indeks dominansi
A	<i>Axonopus sp.</i>	<i>Graminae</i>	2	0,002
	<i>Melastoma sp.</i>	<i>Melastomataceae</i>	7	0,035
	<i>Fimbristylis sp.</i>	<i>Cyperaceae</i>	10	0,07
	<i>Scleria sp.</i>	<i>Cyperaceae</i>	18	0,23
B	<i>Alstonia sp.</i>	<i>Asteraceae</i>	1	0,004
	<i>Melastoma sp.</i>	<i>Melastomataceae</i>	6	0,16
	<i>Clidemia sp.</i>	<i>Melastomataceae</i>	8	0,28
C	<i>Erechtites sp.</i>	<i>Asteraceae</i>	1	0,00014
	<i>Mallotus sp.</i>	<i>Euphorbiaceae</i>	1	0,00014
	<i>Carex sp.</i>	<i>Cyperaceae</i>	1	0,00014
	<i>Cyperus sp.</i>	<i>Cyperaceae</i>	9	0,011
	<i>Kyllinga sp.</i>	<i>Cyperaceae</i>	10	0,014
	<i>Fimbristylis sp.</i>	<i>Cyperaceae</i>	12	0,020
	<i>Panicum sp.</i>	<i>Graminae</i>	50	0,354

Menurut Atlas (1984) tumpahan minyak bumi di permukaan tanah memberikan pengaruh 81 isolate terhadap tumbuhan, yaitu toksisitas akibat kontak langsung atau tidak langsung karena adanya interaksi minyak dengan komponen abiotik dan mikroorganisme tanah.

Jenis Bakteri Yang Terdapat di Rhizosfer Tanaman

Total 81 isolate bakteri yang didapat dari ketiga lokasi sampling ada 34 isolat bakteri, tetapi setelah dilakukan pengamatan koloni ada beberapa 81 isolate bakteri yang memiliki morfologi koloni sama sehingga dipilih 81 isolate yang benar-benar berbeda untuk dilakukan seleksi. Jumlah 81 isolate bakteri yang dilakukan seleksi tahap I berjumlah 20 isolat. Isolat bakteri tersebut selanjutnya di seleksi untuk mendapatkan bakteri yang dapat digunakan sebagai agen bioremediasi. Jumlah secara rinci dari 81 isolate bakteri yang terdapat pada rhizosfer terdapat pada Tabel 2.

Berdasarkan Tabel 2 diketahui bahwa lokasi sampling A memiliki jumlah isolat bakteri lebih banyak bila dibandingkan lokasi B dan C. Adanya perbedaan jumlah bakteri dari lokasi diduga karena

adanya perbedaan eksudat akar yang dikeluarkan dari masing-masing tanaman. Pada pengambilan sampel rhizosfer dilakukan pada 3 jenis tanaman yang berbeda. Kemungkinan ketiga jenis tanaman tersebut mengeluarkan eksudat akar yang berbeda sehingga mempengaruhi jumlah bakteri di rhizosfer. Menurut Husein *et al.*, (2009) tiap tanaman mengeluarkan eksudat akar dengan komposisi yang berbeda-beda sehingga berperan juga sebagai penyeleksi mikroba, pengaruhnya bisa meningkatkan perkembangan mikroba tertentu dan menghambat perkembangan mikroba lain. Semakin banyak eksudasi akar, akan semakin besar jumlah dan keragaman mikroba.

Menurut Priyanto (2010) akar tumbuhan dapat merangsang kegiatan mikroba rizosfer melalui eksudasi nutrisi dan dengan menyediakan air serta difusi gas. Tanaman *Panicum*, merupakan tanaman yang memiliki toleran terhadap tanah tercemar minyak. Aktivitas enzimatik dan mikroba di daerah perakaran tanaman tersebut diketahui meningkat pula. Atlas & Bartha (1992) menambahkan bahwa bakteri *Azospirillum* dan *Azotobacter* merupakan bakteri yang berasosiasi dengan rhizosfer tanaman rumput seperti genus *Panicum*.

Tabel. 2. Hasil Isolasi Bakteri di Daerah Rhizosfer Tanaman di Sekitar Sumur Minyak

No	Lokasi Sampling	Jenis Tanaman mendominasi	Jumlah Isolat Bakteri	Kode Isolat Bakteri
1	A	<i>Scleria</i> sp.	14	A.4.8 ; A.4.10 ; A.5.4 ; A.5.6 ; A.5.8 ; A.5.10 ; A.5.1 ; A.5.3 ; A.6.1 ; A.6.2 ; A.6.3 ; A.6.4 ; A.6.8 ; (A.6.6 = B.5.1)
2	B	<i>Clidemia</i> sp.	9	(B.4.7 = A.5.8) ; (B.4.2 = A.6.3) ; (B.4.4 = A.6.4) ; (B.4.5 = A.5.1) ; (B.6.2 = A.6.2) ; (B.6.4 = A.5.4) ; (B.6.5 = A.6.1) ; B.5.1 ; B.6.1
3	C	<i>Panicum</i> sp.	11	(C.4.2 = A.6.1) ; (C.4.5 = A.6.2) ; (C.4.6 = A.6.4) ; (C.5.1 = B.5.1) ; (C.6.4 = A.6.3) ; (C.6.6 = A.4.8) ; C.4.1 ; C.6.1 ; C.6.2 ; C.6.5 ; C.6.7

Hasil Seleksi Isolat Bakteri Rhizosfer

Dari hasil isolasi terdapat 20 isolat bakteri yang selanjutnya dilakukan seleksi I dan II. Seleksi tahap I ada 1 isolat bakteri yang tidak lolos seleksi. Hasil seleksi tahap II, terdapat 11 isolat bakteri yang lolos, artinya isolat bakteri tersebut mampu hidup di dalam media yang sumber karbonnya berasal dari *crude oil*. Data isolat bakteri yang lolos pada seleksi tahap I dan seleksi tahap II dapat dilihat pada Tabel 3.

Tahapan seleksi I merupakan suatu langkah untuk mendapatkan isolat bakteri rhizosfer yang mam-

pu hidup pada lingkungan mengandung minyak dan menggunakan medium Zobell sebagai nutrisi pertumbuhan. Kemampuan hidup isolat bakteri pada seleksi I belum cukup untuk menduga bahwa isolat bakteri dapat mendegradasi minyak. Hal ini dikarenakan, isolat bakteri tersebut bisa saja memanfaatkan sumber karbon yang berasal medium zobell bukan berasal dari *crude oil*. Menurut Munawar (1999) medium Zobell yang digunakan pada seleksi tahap I merupakan medium kaya nutrisi. Pada medium tersebut bakteri rizosfir yang tahan terhadap residu tetapi tidak dapat memanfaatkan residu tersebut sebagai sumber karbon diduga masih

tetap dapat tumbuh dan bertahan hidup dengan cara memanfaatkan nutrisi dari medium. Pada seleksi tahap I, isolat yang tidak tahan terhadap keberadaan residu minyak bumi dan tidak dapat memanfaatkan residu minyak bumi sebagai sumber karbon dan energi, isolat tersebut akan mati dan tidak tumbuh.

Pada hasil seleksi tahap II didapatkan 11 isolat bakteri yang berasal dari ketiga lokasi sampling (lokasi A sebanyak 8 isolat, lokasi B 1 isolat, dan lokasi C 2 isolat). Isolat bakteri yang lolos pada seleksi ta-

hap II merupakan isolat bakteri yang memiliki kemampuan untuk memanfaatkan *crude oil* sebagai sumber karbon. Menurut Nugroho (2007) bakteri yang ditumbuhkan pada medium dengan penambahan ekstrak ragi, pada awalnya akan menggunakan ekstrak ragi tersebut sebagai sumber karbon primer. Setelah sumber karbon primer habis, *crude oil* yang terdapat di dalam medium akan menginduksi gen-gen pengatur enzim untuk mendegradasi hidrokarbon, hingga hidrokarbon tersebut dapat digunakan sebagai sumber karbon sekunder.

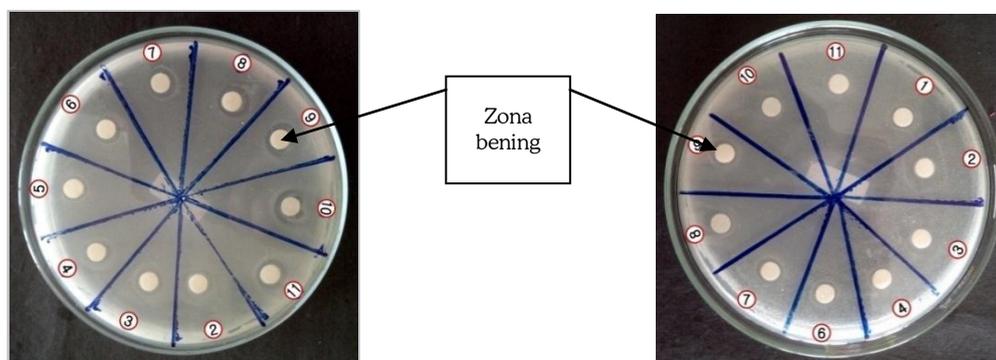
Tabel 3. Hasil seleksi tahap 1 dan seleksi tahap II

Lokasi Sampling	Σ isolat Bakteri sebelum seleksi	Σ isolat Bakteri Yang Lolos Seleksi I	Σ isolat Bakteri Yang Lolos Seleksi II	Kode Isolat Bakteri
A	13	13	8	A.4.10 ; A.5.4 ; A.5.6 ; A.5.8 ; A.5.1 ; A.5.3 ; A.6.3 ; A.6.8
B	2	1	1	B.5.1
C	5	5	2	C.4.1 ; C.6.7

Hasil Uji Sinergisme Pertumbuhan Bakteri

Berdasarkan hasil pengujian sinergis bakteri yang berasal dari 11 isolat bakteri yang lolos seleksi II maka diperoleh 8 isolat bakteri yang menunjukkan hubungan sinergis (tidak menghambat pertumbuhan

bakteri yang lain). Sedangkan 3 isolat bakteri yang lainnya menunjukkan hubungan antagonis karena menghambat pertumbuhan bakteri lain dengan terbentuknya zona bening di sekitar paper disk. Hasil pengujian sinergis bakteri dapat dilihat pada Gambar 2.



1. Isolat B.5.1; 2. isolat A.6.3; 3. isolat C.6.7; 4. isolat A.5.1 ; 5. isolat A.5.4; 6. isolat A.5.8; 7. isolat A.4.10 ; 8. isolat C.4.1; 9. isolat A.5.3 ; 10. isolat A.5.6 ; 11. isolat A.6.8

Gambar 2. Hasil Uji Sinergis Isolat Bakteri Hidrokarbonoklastik

Bakteri-bakteri yang bisa digunakan sebagai agen bioremediasi ialah bakteri terpilih yang dalam kemampuannya bisa saling bekerja sama dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon. Jika terdapat bakteri yang bersifat antagonis, maka bakteri tersebut bisa menghambat proses degradasi. Menurut Zam (2010) terjadinya proses degradasi senyawa-senyawa hidrokarbon dikarenakan terjadi aktivitas secara sinergisme dalam kultur tunggal dan terjadi proses

kometabolisme. Apabila bakteri yang digunakan bersifat antagonis maka akan mengakibatkan terjadinya kompetisi antar bakteri, sehingga pertumbuhan dan proses degradasi akan menjadi rendah.

Karakterisasi Isolat Bakteri Hidrokarbono-lastik

Dari hasil isolasi yang telah dilakukan, diperoleh 4 isolat bakteri yang memiliki potensi sebagai agen bioremediasi. Isolat bakteri dilakukan karakterisasi berdasarkan pengamatan morfologi dan uji biokimianya. Hasil dari pengujian ini digunakan untuk

pencirian dan identifikasi mikroorganisme yang dilakukan dengan cara membuat dendogram berdasarkan tingkat atau persentasi similaritas (kemiripan) dengan genus bakteri yang sesuai. Hasil karakterisasi morfologi koloni, morfologi sel, dan sifat-sifat fisiologis dari masing-masing isolat bakteri dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil karakterisasi bakteri rhizosfer yang berperan sebagai agen bioremediasi

Kode isolat Karakteristik		A ⁴ ₁₀	A ⁵ ₈	A ⁶ ₃	C ⁶ ₇
Pertumbuhan Agar Tegak		<i>Arborescens</i>	<i>Rhizoid</i>	<i>Rhizoid</i>	<i>Rhizoid</i>
Pertumbuhan Pada agar miring	Bentuk Pertumbuhan	<i>Spreading</i>	<i>Filiform</i>	<i>Filiform</i>	<i>Spreading</i>
Pertumbuhan pada agar lempeng	Bentuk	<i>Filamentous</i>	<i>Round with raised margin</i>	<i>complex</i>	<i>Round with scalloped margin</i>
	Tepi	<i>Lobate</i>	<i>Smooth</i>	<i>Entire</i>	<i>Undulate</i>
	Struktur dalam	<i>Arborescens</i>	<i>Transparent</i>	<i>Transparent</i>	<i>Transparent</i>
	Elevasi	<i>Convex</i>	<i>Convex</i>	<i>Convex</i>	<i>Low convex</i>
Pertumbuhan pada media cair	Warna	Krem	Krem	Putih mengkilat	Putih
	Pertumbuhan	Obligat aerob	Anaerobik fakultatif	Anaerobik fakultatif	Anaerobik fakultatif
Bentuk Sel dan Sifat Gram		Coccus (-)	Coccus (-)	Coccus (-)	Coccus (-)
Endospora		+	+	-	+
Macam Uji Biokimia	Indol	-	-	-	-
	H ₂ S	-	+	+	-
	MR	-	-	-	+
	VP	-	-	-	-
	Sitrat	+	+	+	+
	Motilitas	+	+	+	+
	Pati	+	+	+	+
	Gelatin	+	+	-	+
	Urea	-	-	-	-
	Katalase	+	+	+	+
	Glukosa	+	+	+	+
Sukrosa	+	+	+	-	
Laktosa	-	-	+	-	

Keterangan: (+) = Hasil uji positif; (-) = Hasil uji negatif

Karakteristik dari isolat A.4.10 secara morfologi berbentuk *filamentous*, pertumbuhan pada médium cair bersifat obligat aerob. Gram negatif berbentuk coccus dan memiliki endospora. Pada uji katalase yang dilakukan menunjukkan bahwa isolat A.4.10 memiliki enzim katalase. Hal ini ditandai dengan terbentuk gelembung udara di sekitar koloni dengan penambahan H₂O₂ 5 %. Menurut Gardenia *et al.*, (2010) bakteri aerob akan bereaksi positif terhadap uji katalase, sedangkan bakteri anaerob akan menimbulkan reaksi negatif.

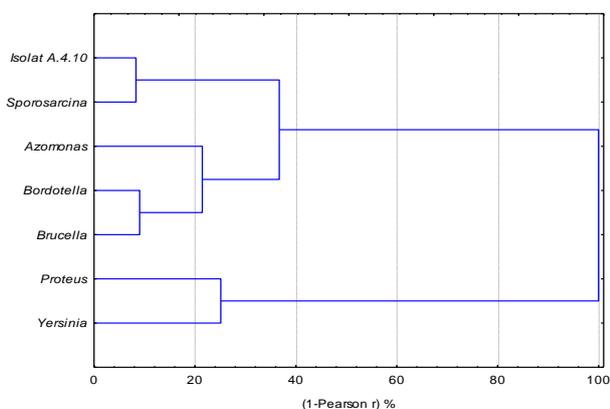
Karakteristik dari isolat A.5.8 dan isolat C.6.7 secara morfologi berbentuk *Round with raised margin* dan *round with scalloped*. Masing-masing pertumbuhannya pada medium cair bersifat anaerobik fakultatif. Hasil pewarnaan gram merupakan gram negatif berbentuk coccus dan memiliki endospora. Hasil uji katalase pada isolat A.5.8 dan isolat C.6.7

menunjukkan reaksi positif dengan adanya gelembung udara. Menurut Hassan (2006) timbulnya gelembung udara pada uji katalase memberikan indikasi terbentuknya gas O₂ dari pemecahan H₂O₂ oleh enzim katalase bakteri tersebut, seperti ditunjukkan pada reaksi berikut: $2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$.

Karakteristik dari isolat A.6.3 secara morfologi berbentuk *kompleks*, sedangkan pertumbuhan pada médium cair bersifat anaerobik fakultatif. Hasil pewarnaan gram merupakan gram negatif berbentuk coccus, dan tidak memiliki endospora. Isolat A.6.3 menunjukkan hasil positif dalam uji katalase walaupun isolat bakteri ini termasuk bakteri anaerob fakultatif. Menurut Akhmaisyah (2010) beberapa bakteri yang memiliki flavoprotein dapat mereduksi O₂ dengan menghasilkan hidrogen peroksida (H₂O₂) atau superoksida (O₂⁻). Kedua bahan ini merupakan bahan yang toksik dan menghancurkan komponen sel dengan sangat cepat.

Identifikasi Isolat Bakteri Hidrokarbonoklastik

Hasil karakterisasi yang dilakukan dari ciri morfologi dan sifat biokimiawi isolat bakteri dapat membantu dalam identifikasi bakteri. Pada buku identifikasi *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 8th edition* dan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th edition* dapat dilakukan pengelompokan dari beberapa genus bakteri yang sifatnya memiliki kesamaan dengan isolat bakteri rhizosfer yang didapat. Hasil pencocokan karakteristik isolat bakteri dengan genus yang diduga memiliki kesamaan selanjutnya di buat dendogramnya untuk melihat persentase similaritasnya. Gambar dendogram dari masing-masing isolat bakteri dapat dilihat pada gambar di bawah ini.

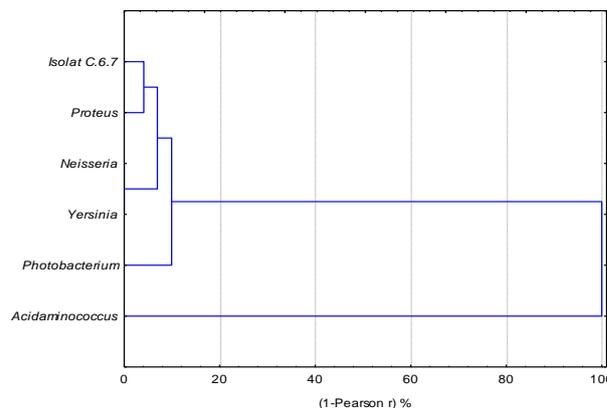


Gambar 3. Dendogram isolat A.4.10 dengan beberapa pendugaan genus bakteri

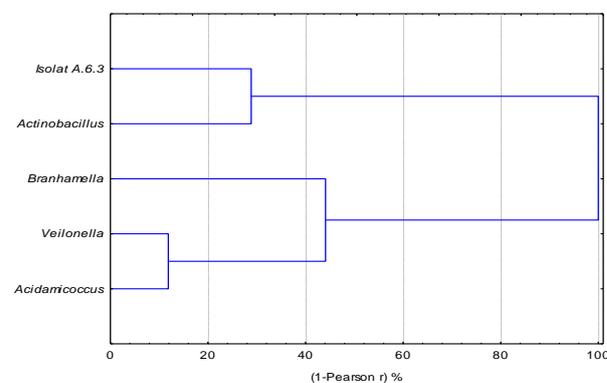
Pada Gambar 3, dendogram di atas dapat terlihat bahwa isolat A.4.10 dan *Sporosarcina* dikatakan dalam satu genus yang sama karena menunjukkan nilai similaritas 91 %. Sedangkan antara isolat A.4.10 dengan genus *Azomonas*, *Bordotella*, *Brucella*, *Proteus*, dan *Yersinia* nilai kekerabatannya sangat jauh. Menurut Buchanan & Gibbons, (1974) *Sporosarcina* memiliki ciri-ciri dengan bentuk coccus, terdapat endospora, obligat aerob, motil. Hasil uji biokimiawi berupa uji indol, H₂S, dan sitrat negatif. Sedangkan uji pati, gelatin, urea, dan katalase positif.

Pada dendogram gambar 4 dapat terlihat bahwa persentase similaritas antara isolat C.6.7 dengan genus *Proteus* adalah 95 %. Sehingga antara isolat C.6.7 dan *Proteus* dapat dikatakan dalam satu genus. Menurut Buchanan & Gibbons (1974) *Proteus* merupakan bakteri yang berbentuk coccus, gram negatif, tidak ada endospora. Karakteristik uji biokimia menunjukkan hasil positif pada uji Metil

red, katalase dan mampu memfermentasi glukosa membentuk asam.



Gambar 4. Dendogram isolat C.6.7 dengan beberapa pendugaan genus bakteri

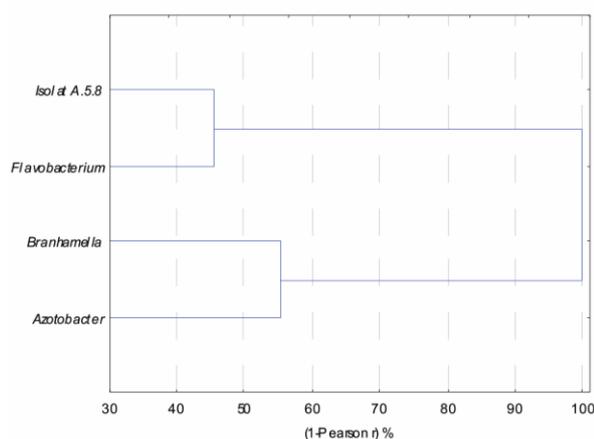


Gambar 5. Dendogram isolat A.6.3 dengan beberapa pendugaan genus bakteri

Pada Gambar 5, dendogram di atas dapat terlihat bahwa persentase similaritas antara isolat A.6.3 dengan genus *Actinobacillus* adalah 72 %. Menurut Macinnes & Lally (2006) genus *Actinobacillus* merupakan bakteri gram negatif, coccobasil, anaerobik fakultatif, reaksi indol negatif. *Actinobacillus* memiliki kekerabatan yang erat dengan isolat A.6.3 berdasarkan sifat morfologi sel maupun uji biokimiawi.

Pada Gambar 6, dendogram di atas dapat terlihat bahwa persentase similaritas antara isolat A.5.8 dengan genus *Flavobacterium* adalah 55 %. Sedangkan antara isolat A.5.8 dengan genus *Branhamella* dan *Azotobacter* nilai kekerabatannya lebih jauh lagi. Menurut Bernardet & Bowman (2006) *Flavobacterium* merupakan bakteri dapat di isolasi dari tanah, air, jaringan ikan. Genus *Flavobacterium* menunjukkan pertumbuhan yang baik pada medium agar. Buchanan & Gibbons (1974) juga menambahkan bahwa *flavobacterium*

merupakan bakteri anaerobik fakultatif dengan pertumbuhan pada medium lempeng berwarna kuning, struktur dalam *translucent*, dan tepi *smooth*.



Gambar 6. Dendrogram isolat A.5.8 dengan beberapa pendugaan genus bakteri

4 SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh, pertama, kelimpahan jumlah bakteri rhizosfer tergantung dari jenis eksudat akar yang dikeluarkan tanaman. Kedua, bakteri yang memiliki potensi sebagai agen bioremediasi terdiri dari genus *Sporosarcina* A.4.10, *Proteus* C.6.7, *Actinobacillus* A.6.3, dan *Flavobacterium* A.5.8.

Dikarenakan ada 2 bakteri yang memiliki persentase similaritas dibawah 80 % sehingga diperlukan identifikasi yang lebih akurat yaitu secara molekuler dengan PCR-amplified 16S rRNA.

Diperlukan adanya penelitian lanjutan untuk mengetahui kemampuan biodegradasi hidrokarbon menggunakan asosiasi antara bakteri hidrokarbonoklastik dengan tanaman indigen.

REFERENSI

- [1] Akhmaisyah. 2010. Potensi *Streptomyces* sp. Isolat Lokal Dalam Mendegradasi Limbah Minyak Bumi. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor
- [2] Atlas, R.M. 1984. *Petroleum Microbiology*. New York: Macmillan Publishing Co.
- [3] Atlas, R.M & Bartha, R. 1992. *Microbial Ecology; Fundamentals and Applications*. Third Edition. The Benjamin cummings publishing company, Inc.
- [4] Bernardet, JF and Bowman, JP. 2006. The Genus *Flavobacterium*. *Journal Prokaryotes*.Chapter 6.4.
- [5] Buchanan, R.E., & N.E. Gibbons. 1974. *Bergeys Manual of Determinative Bacteriology*, 8 th ed, Williams & Wilkins, Baltimore. This volume is the standard international reference book on the classification and taxonomy of bacteria. Each major group of bacteria is described, and recognized species are characterized in detail
- [6] Gardenia, L., Koesharyani, I. Supriyadi H., Mufidah T. 2010. Aplikasi Deteksi *Aeromonas hydrophila* Penghasil Aerolysin dengan Menggunakan Polymerase Chain Reaction (PCR). *Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur*.
- [7] Hassan, Z.H. 2006. Isolasi *Lactobacillus*, Bakteri Asam laktat dari feses dan organ saluran pencernaan ayam. *Sem. Nas. Teknologi Peternakan dan Veteriner*.
- [8] Komarawidjaja, W & Lysiasuti, E. 2009. Status Konsorsium Mikroba Lokal Pendegradasi Minyak. *Jurnal Teknologi Lingkungan*. Vol. 10 No.3 Hal 347-354. ISSN 1441-318X
- [9] Macinnes, J.I, & Lally, E.T. 2006. *The Prokaryotes*. 3rd edition. <http://www.springerreference.com>
- [10] Mawazin & Subiakto, A. 2013. Keanekaragaman dan Komposisi Jenis Permudaan Alam Hutan Rawa Gambut Bekas Tebangan di Riau. *Jurnal*. Vol. 1 No. 1
- [11] Munawar. 1999. Isolasi dan Uji Kemampuan Isolat Bakteri Rhizosfir dari Hutan Bakau di Cilacap dalam Mendegradasi Residu Minyak Bumi. *Tesis*. Program Pascasarjana ITB. Tidak dipublikasikan
- [12] Nugroho, A. 2007. Biodegradasi Sludge Minyak Bumi Dalam Skala Mikrokosmos : Simulasi Sederhana Sebagai Kajian Awal Bioremediasi Land Treatment. *Makara. Teknologi*. Vol. 10. No.2.
- [13] Priyanto, B. 2010. *Pengembangan Teknologi Fitoremediasi Untuk Menanggulangi Penyebaran Pencemaran Minyak Bumi*. Laporan Akhir Program Intenstif. Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi
- [14] Purwaningsih. 2009. *Pengujian Mikroba Sebagai Pupuk Hayati Terhadap Pertumbuhan Tanaman*. *Tesis*. Institut Pertanian Bogor
- [15] Rao, N.S. Subra. 2007. *Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman*. Ed. II. UI Press. Jakarta. 352 hlm
- [16] Silitonga, D. M, Priyani, N, dan Nurwahyuni, I. 2013. Isolasi dan Uji Potensi Isolat Bakteri Pelarut Fosfat dan Bakteri Penghasil Hormon IAA (*Indole Acetic Acid*) Terhadap Pertumbuhan Kedelai (*Glycine max* L.) Pada Tanah Kuning. *Jurnal*. Vol 1, No 2
- [17] Soemarno. 2010. *Ekologi Tanah*. <http://marno.ub.ac.id>
- [18] Zam, S.I. 2010. Optimasi Konsentrasi Inokulum Bakteri Hidrokarbonoklastik Pada Bioremediasi Limbah Pengilangan Minyak Bumi di Sungai Pakning. *Journal of environmental science*. ISSN 1978-5283