



SEMINAR NASIONAL SAINS DAN TEKNOLOGI – IV

Hotel Marcopolo, Bandar Lampung, 29 – 30 November 2011

FUNGSI DAN KOMPOSISI KONSORSIUM BAKTERI PENDEGRADASI FRAKSI RESIN DARI MINYAK BUMI

Munawar^{1,2}, Pingkan Aditiawati³, dan Dea Indriani Astuti³

¹ Mahasiswa Program Doktor, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati,
Institut Teknologi Bandung, Bandung 40132

² Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Sriwijaya, Inderalaya 30662

³ Program Studi Mikrobiologi, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati,
Institut Teknologi Bandung, Bandung 40132
Email: mu_na_war@yahoo.com

ABSTRACT

Resin is one component of the petroleum of the most difficult to degrade after a asphaltic fraction, because its structure is complex and contains saturated and aromatic fractions. The purpose of this experiment was to determine the function of each bacterial strain in the consortium during degrading the resin fraction. The experiments were conducted in a single culture of each bacterial constituent of consortia and mixed culture consisting of four bacteria, *Pseudomonas* sp (T1H1D5-5), *Mycobacterium* sp (T2H3D1-9), *Micrococcus* sp (T3H3D4-3), and *Pseudomonas* sp (T3H3D5-1). The experiments were conducted in a *Mineral Medium Broth* added resin fraction as the sole carbon and energy source. The experimental results showed that each strain of bacteria has different functions in degrading the resin fraction. Strains of *Micrococcus* sp (T3H3D4-3) degrades the resin becomes saturated fraction, *Pseudomonas* sp (T3H3D5-1) degrades the resin becomes aromatic fraction, while the *Pseudomonas* sp (T1H1D5-5) further degrade the fraction of saturated and *Mycobacterium* sp (T2H3D1-9) degrade further aromatic fractions. The process of further biodegradation saturated fraction by *Pseudomonas* sp (T1H1D5-5) and aromatic fractions by *Mycobacterium* sp (T2H3D1-9) each done perfectly demonstrated an increase in CO₂ during the process of biodegradation.

Key words: Consortium, Resin, Biodegradation, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*

PENDAHULUAN

Resin merupakan salah satu komponen fraksi minyak bumi yang bersifat polar (Bowden *et al.*, 2006; Alboudwarej *et al.*, 2006; Gawrys, 2005; Aublem, 2002 menyatakan bahwa fraksi tersebut mengandung fraksi alifatik (jenuh) dan aromatik. Untuk mendegradasi fraksi resin secara sempurna sangat kecil

kemungkinannya hanya dilakukan oleh satu strain mikroba saja, tetapi diperlukan beberapa strain dalam bentuk konsorsium. *Pleurotus tuber-regium* mampu mendegradasi fraksi resin dari minyak bumi (Ogbo and Okhuova, 2008), tetapi kemungkinan degradasinya tidak sempurna, sehingga diperlukan strain mikroba yang lain.

Beberapa strain bakteri seperti *Mycobacterium fortuinum*, *M. rotisbonense*, *Brevibacterium* sp, *Corynobacterium* sp, *Rhodococcus* sp mampu mendegradasi fraksi jenuh secara sempurna menghasilkan CO₂ dan H₂O (Pineda-Flores *et al.*, 2004). Bakteri lain seperti *Arthrobacter* sp, *Nocardia* sp, dan *Pseudomonas* sp mampu mendegradasi fraksi aromatik secara sempurna menghasilkan CO₂ dan H₂O (Alquaty *et al.*, 2005). Empat strain bakteri petrofilik telah berhasil diisolasi dari tanah terkontaminasi minyak bumi di Sumatra Selatan yaitu *Pseudomonas* sp (T3H3D5-1), *Micrococcus* sp (T3H3D4-3), *Mycobacterium* sp (T2H3D1-9), dan *Pseudomonas* sp (T1H1D5-5). Untuk mengetahui fungsi masing-masing strain dalam bentuk konsorsium dalam mendegradasi fraksi resin, dilakukan pengujian dalam bentuk kultur tunggal dan kultur campur, sehingga dapat diketahui fungsi masing-masing strain bakteri tersebut.

METODE PENELITIAN

Percobaan Biodegradasi Fraksi Resin

Pengujian dilakukan terhadap empat strain bakteri sebagai kultur tunggal yaitu (K) Kontrol (tanpa bakteri); (A) *Pseudomonas* sp (T1H1D5-5); (B) *Mycobacterium* sp (T2H3D1-9); (C) *Micrococcus* sp (T3H3D4-3); (D) *Pseudomonas* sp (T3H3D5-1) dan sebagai konsorsium dalam kultur campur meliputi (E) *Pseudomonas* sp (T3H3D5-1) + *Micrococcus* sp (T3H3D4-3) + *Pseudomonas* sp (T1H1D5-5); (F) *Pseudomonas* sp (T3H3D5-1) + *Micrococcus* sp (T3H3D4-3) + *Mycobacterium* sp (T2H3D1-9); (G) *Pseudomonas* sp (T3H3D5-1) + *Micrococcus* sp (T3H3D4-3) + *Pseudomonas* sp (T1H1D5-5) + *Mycobacterium* sp (T2H3D1-9). Semua kultur diinokulasikan ke dalam botol 100

ml yang berisi 12,5 ml *Mineral Medium* (MM) dengan komposisi menurut Atlas (2010) gram per liter: K₂HPO₄ 0,45; (NH₄)₂SO₄ 0,1; MgSO₄.7H₂O 0,02; NaCl 0,01; CaCl₂ 0,01; FeCl₃ 0,002 dan 0,25 gram fraksi resin sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi. Botol kultur dilengkapi dengan botol kecil yang berada didalamnya yang berisi larutan KOH 0,01 M sebagai penangkap CO₂. Kultur diinkubasi pada *orbital shaker* dengan putaran 100 rpm pada suhu kamar (26 – 31 °C) selama satu minggu. Selanjutnya dilakukan penghitungan populasi bakteri menggunakan bilik hitung, dan analisis fraksi jenuh, aromatik dan resin menggunakan metode *SARA Analysis*, serta analisis CO₂ menggunakan metode titrasi asidik-alkalimetri, setiap 24 jam.

Penghitungan Populasi Bakteri

Populasi bakteri dihitung menggunakan bilik hitung dalam satuan sel per ml. Sampel diambil sebanyak 1 ml dari botol kultur setelah dihomogenkan, dimasukkan ke dalam bilik hitung dan diamati di bawah mikroskop. Penghitungan menggunakan bilik hitung diambil sebanyak 5 bilik besar. Populasi bakteri dalam satuan sel per ml dicari dengan persamaan 1, berikut:

$$\text{Populasi bakteri (sel/ml)} = A \times \frac{1000}{0,02} \quad (1)$$

dimana:

A = jumlah sel bakteri pada lima bilik besar

1000 = konversi ml menjadi mm³

0,02 = volume lima bilik besar dalam satuan mm³

Analisis Fraksi Hidrokarbon

Dilakukan pemisahan medium dengan fraksi resin yang tersisa menggunakan corong pemisah. Sisa fraksi yang masih terdapat pada dinding botol kultur dibilas dengan n-pentan, digabungkan dengan fraksi resin yang telah dipisahkan. Selanjutnya ditambahkan n-pentan hingga 20 ml kedalam botol baru yang berisi fraksi resin. Botol dikocok selama dua menit sehingga homogen selanjutnya dikolom menggunakan *silica gel* (60-100 mesh), untuk ekstraksi fraksi jenuh, ditambah n-pentan hingga volume 20 ml dikolom dengan kecepatan 5 ml/menit

selama 4 menit, ekstraksi fraksi aromatik ditambahkan 20 ml toluen pada kolom dan dialirkan dengan kecepatan 5 ml/menit selama 4 menit, ekstraksi fraksi resin ditambahkan toluen:etanol = 90:10 dan dialirkan dengan kecepatan 5 ml/menit selama 4 menit. Selanjutnya masing-masing fraksi diuapkan pelarutnya dengan menyimpan pada lemari asam hingga beratnya konstan. Penentuan konsentrasi semua fraksi dilakukan secara gravimetri. (Auflern (2002); Vazquez dan Mansoori (2000).

Analisis Karbon Dioksida (CO₂)

Analisis CO₂ dilakukan terhadap 5 ml larutan KOH 0,01 M dalam botol respirometrik. Sebanyak 5 ml KOH 0,01 M dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 ml kemudian ditambahkan indikator phenol phtalein (pp) sebanyak 1,5 tetes dan dikocok, selanjutnya dititrasi dengan HCl 0,01 M sampai warna merah hilang, dan dihitung volume HCl yang digunakan dalam satuan liter. Perhitungan konsentrasi CO₂ dilakukan sesuai dengan persamaan 2, sebagai berikut:

$$CO_2 \text{ (ppm)} = V \times 0,01 \times 44,0098 \times 1000 \times 200 \quad (2)$$

dimana:

V = volume titran (HCl) dalam Liter

0,01 = Molaritas HCl

44,0098 = Berat molekul CO₂

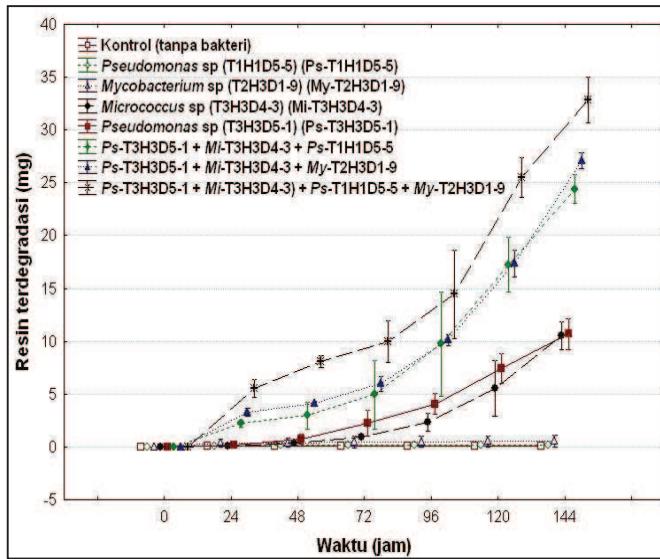
1000 = faktor konversi dari g ke mg

200 = faktor konversi dari 5 ml ke satu liter

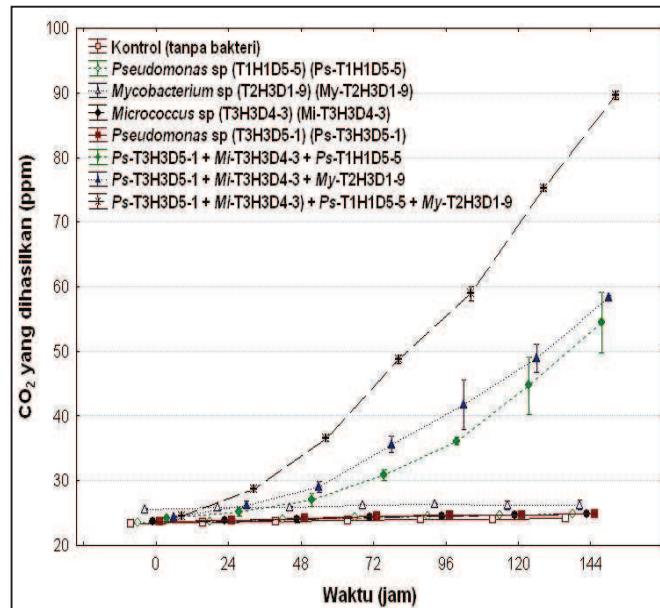
HASIL DAN PEMBAHASAN

Kultur tunggal bakteri *Pseudomonas* sp (T1H1D5-5) dan *Mycobacterium* sp (T2H3D1-9) tidak mampu mendegradasi fraksi resin, karena kedua strain bakteri tersebut menunjukkan konsentrasi resin terdegradasi (Gambar 1) dan CO₂ (Gambar 2) yang dihasilkan tidak berbeda dengan control, sedangkan kultur tunggal strain *Micrococcus* sp (T3H3D4-3) mampu mendegradasi asfaltik menjadi

fraksi jenuh dan *Pseudomonas* sp (T3H3D5-1) mampu mendegradasi resin menjadi fraksi aromatik. Hal ini ditunjukkan pada Gambar 1.



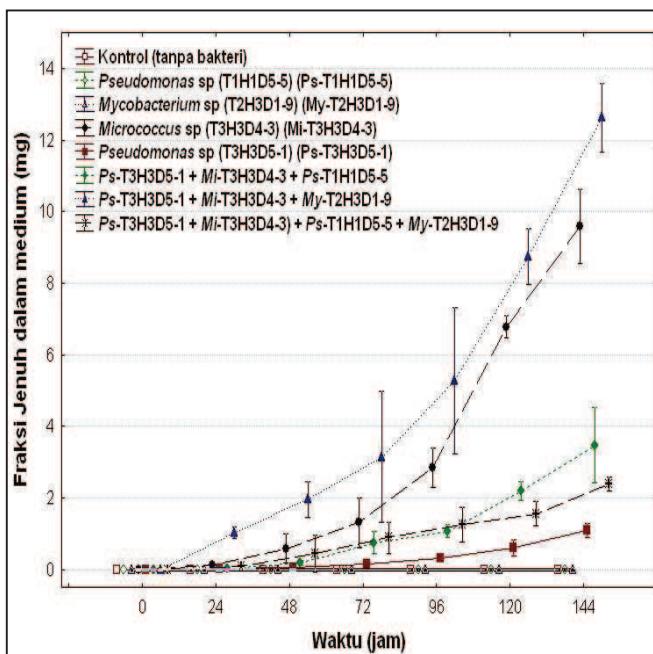
Gambar 1. Konsentrasi resin terdegradasi oleh berbagai perlakuan kultur bakteri selama satu minggu



Gambar 2. Konsentrasi CO₂ yang dihasilkan oleh berbagai perlakuan kultur bakteri selama satu minggu

Pada kultur tunggal *Micrococcus* sp (T3H3D4-3) terjadi pengurangan fraksi resin dan dihasilkan fraksi jenuh (Gambar 3) yang cukup tinggi serta pada kultur tunggal *Pseudomonas* sp (T3H3D5-1) terjadi pengurangan fraksi resin (Gambar 1)

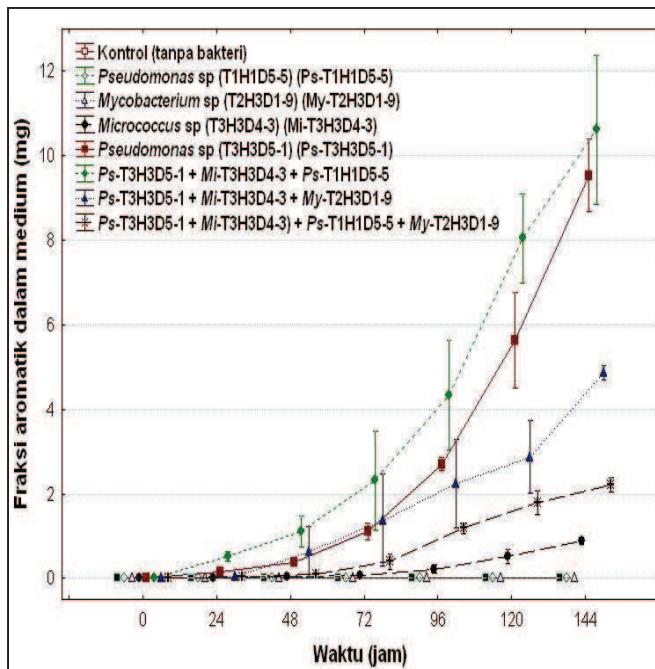
dan dihasilkan fraksi aromatik (Gambar 4) yang cukup tinggi. Tetapi pada kedua strain bakteri tersebut konsentrasi CO₂ (Gambar 2) yang dihasilkan masih tidak berbeda dengan kontrol (tanpa bakteri). Fenomena ini menunjukkan bahwa kedua strain bakteri tersebut dalam mendegradasi resin berlangsung tidak sempurna. Hal ini didukung oleh pendapat Uribe-Alvarez *et al.* (2011) bahwa biodegradasi sempurna atau proses mineralisasi senyawa petroleum hidrokarbon ditandai dengan dihasilkannya CO₂.



Gambar 3. Konsentrasi fraksi jenuh yang dihasilkan oleh berbagai perlakuan kultur bakteri selama satu minggu

Proses biodegradasi resin oleh semua kultur campur lebih baik dibandingkan dengan kultur tunggal, hal ini ditunjukkan pada semua kultur campur konsentrasi CO₂ (Gambar 2) lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol ataupun dengan semua kultur tunggal. Pada kultur campur {*Pseudomonas* sp (T3H3D5-1) + *Micrococcus* sp (T3H3D4-3) + *Pseudomonas* sp (T1H1D5-5)} menunjukkan konsentrasi fraksi jenuh (Gambar 3) yang terdapat dalam medium lebih sedikit dibandingkan konsentrasi fraksi aromatik (Gambar 4.) yang terdapat dalam medium. Hal ini terjadi kemungkinan fraksi jenuh hasil degradasi strain *Micrococcus* sp (T3H3D4-3) didegradasi lebih lanjut oleh *Pseudomonas* sp (T1H1D5-5) sehingga konsentrasi fraksi jenuh yang tersisa dalam medium lebih sedikit dibandingkan dengan fraksi aromatik. Sedangkan pada kultrum campur {*Pseudomonas* sp

$(T3H3D5-1) + Micrococcus sp (T3H3D4-3) + Mycobacterium sp (T2H3D1-9)$ } menunjukkan kondisi yang sebaliknya, yaitu konsentrasi fraksi aromatik lebih sedikit dibanding dengan fraksi jenuh. Hal ini dimungkinkan fraksi aromatik hasil degradasi dari fraksi resin oleh strain *Pseudomonas* sp (T3H3D5-1) didegradasi lebih lanjut oleh strain *Mycobacterium* sp (T2H3D1-9). Fenomena ini didukung oleh Auflem (2002) yang menyatakan bahwa fraksi resin terdiri atas fraksi alifatik (jenuh) dan aromatik.

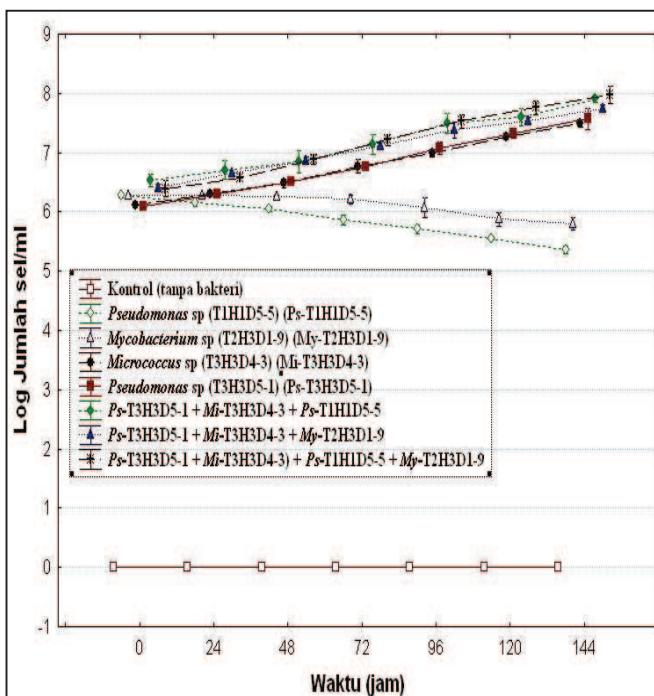


Gambar 4. Konsentrasi fraksi aromatik yang dihasilkan oleh berbagai perlakuan kultur bakteri selama satu minggu

Pada kultur campur yang terdiri atas empat strain bakteri $\{Pseudomonas$ sp (T3H3D5-1) + *Micrococcus* sp (T3H3D4-3) + *Pseudomonas* sp (T1H1D5-5) + *Mycobacterium* sp (T2H3D1-9)} menunjukkan konsentrasi CO₂ (Gambar 2), fraksi resin terdegradasi (Gambar 1) paling tinggi dibanding dengan semua kultur tunggal dan kultur campur yang lain, dan konsentrasi fraksi jenuh (Gambar 3) serta konsentrasi fraksi aromatik (Gambar 4) dalam medium paling sedikit. Hal ini dapat dijelaskan bahwa fraksi jenuh hasil degradasi resin oleh strain *Micrococcus* sp (T3H3D4-3) didegradasi lebih lanjut oleh strain *Pseudomonas* sp (T1H1D5-5), dan fraksi aromatik hasil degradasi resin oleh strain *Pseudomonas* sp (T3H3D5-1)

didegradasi lebih lanjut oleh strain *Mycobacterium* sp (T2H3D1-9), sehingga fraksi jenuh dan fraksi aromatik dalam medium jumlahnya menjadi sedikit.

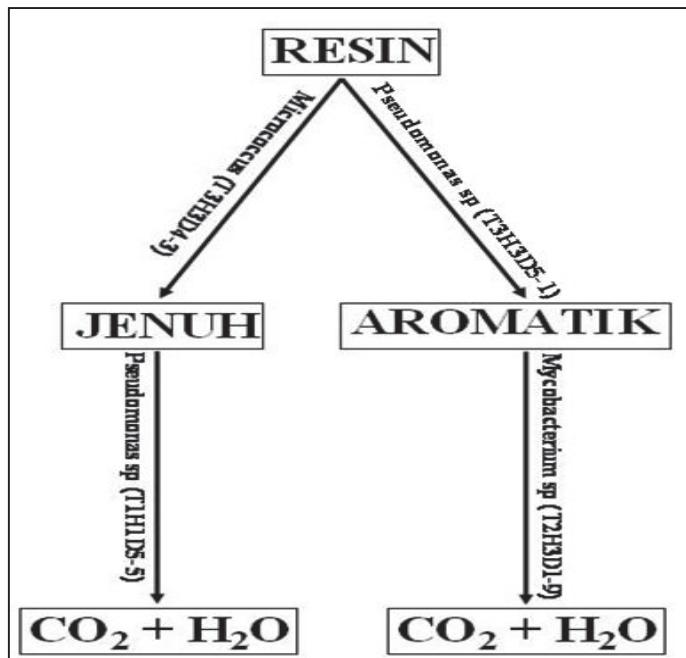
Populasi sel (Gambar 5) kultur tunggal *Pseudomonas* sp (T1H1D5-5) dan *Mycobacterium* sp (T2H3D1-9) menunjukkan penurunan selama inkubasi satu minggu, hal ini dapat dijelaskan bahwa kedua strain tersebut tidak mampu mendegradasi fraksi resin secara langsung. Tetapi kultur tunggal strain *Micrococcus* sp (T3H3D4-3) dan *Pseudomonas* sp (T3H3D5-1) menunjukkan populasi sel yang meningkat selama inkubasi satu minggu, hal ini didukung oleh berkurangnya fraksi resin dalam medium, yang menunjukkan terjadi degradasi fraksi resin walaupun tidak sempurna, karena konsentrasi CO₂ yang dihasilkan masih setara dengan CO₂ yang dihasilkan pada kontrol. Secara umum populasi sel pada semua kultur campur menunjukkan kenaikan selama proses biodegradasi, dan menunjukkan jumlah yang lebih tinggi dibandingkan dengan kultur tunggal.



Gambar 5. Populasi sel selama proses biodegradasi resin oleh berbagai perlakuan kultur bakteri selama satu minggu

Berdasarkan uraian diatas dapat dijelaskan bahwa fungsi masing-masing strain bakteri konsorsium dalam mendegradasi fraksi resin adalah *Micrococcus* sp (T3H3D4-3) mendegradasi resin menjadi fraksi jenuh dan didegradasi lebih lanjut oleh *Pseudomonas* sp (T1H1D5-5). *Pseudomonas* sp (T3H3D5-1) mendegradasi

resin menjadi fraksi aromatik yang didegradasi lebih lanjut oleh *Mycobacterium* sp (T2H3D1-9) sebagaimana tercantum pada bagan Gambar 6.



Gambar 6. Fungsi masing-masing strain bakteri konsorsium dalam mendegradasi fraksi resin dari minyak bumi

KESIMPULAN

Fungsi masing-masing strain bakteri konsorsium dalam mendegradasi fraksi resin adalah *Micrococcus* sp (T3H3D4-3) mendegradasi resin menjadi fraksi jenuh dan didegradasi lebih lanjut oleh *Pseudomonas* sp (T1H1D5-5). *Pseudomonas* sp (T3H3D5-1) mendegradasi resin menjadi fraksi aromatik yang didegradasi lebih lanjut oleh *Mycobacterium* sp (T2H3D1-9).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. Djoko T. Iskandar yang telah banyak memberikan masukan selama penelitian sehingga artikel ini dapat ditulis.

DAFTAR PUSTAKA

- Alboudwarej, H., J. Felix, J., Taylor, S., Badry, R., Bremner, C., Brough, B., Skeates, C., Baker, A., Palmer, D., Pattison, K., Beshry, M., Krawchuk, P., Brown, G., Calvo, R., Triana, J.A.C., Hathcock, R., Koerner, K., Hughes, T., Kundu, D., de-Cardenas, J.L. dan West, C. 2006. Highlighting Heavy Oil. *Oilfield Review Summer*, pp 34-53.
- Alquaty, C., Papacchini, M., Riccard, C., Spicaglia, S. and Bestiti, G. 2005. Diversity of naphtalene-degrading bacteria from a petroleum contaminated soil. *Annals of Microbiology*. Vol. 55, 4, pp 237-242.
- Auflem, I.H. 2002. Influence of Asphaltene Aggregation and Pressure on Crude Oil Emulsion Stability. Ph.D. Thesis. Trondheim: Norwegian University of Science and Technology. Norwegian.
- Bowden, S.A., Farrimond, P., Snape, C. E. and Love, G. D. 2006. Compositional differences in biomarker constituents of the hydrocarbon, resin, asphaltene and kerogen fractions: An example from the Jet Rock (Yorkshire, UK). *Organic Geochemistry*, Vol. 37, pp 369–383.
- Gawrys, K.L., 2005. How Asphaltenes Aggregate: Role of Chemistry and Solvent. Ph.D. Dissertation. Chemical Engineering. North Carolina State University.
- Ogbo, E.M. and Okhuoya, J. A. 2008. Biodegradation of aliphatic, aromatic, resinic and asphaltic fractions of crude oil contaminated soils by *Pleurotus tuber-regium* Fr. Singer - a white rot fungus. *Afr. J. Biotechnol*, Vol. 7, 23, pp 4291-4297.
- Pineda-Flores, G., Boll-Argüello, G., Lira-Galeana, C. and Mesta-Howard, A. M. 2004. A Microbial Consortium Isolated from a Crude Oil Sample that uses Asphaltenes as a Carbon and Energy Source. *Biodegradation*, Vol. 15, pp 145–151.
- Uribe-Alvarez, C., Ayala, Perezgasga, L., Naranjo, L., Urbina, H. and Vazquez-Duhalt, R. 2011. First evidence of mineralization of petroleum asphaltenes by a strain of *Neosartorya fischeri*. *Microbial Biotechnology*, Vol. 4, 5, pp 663–672.
- Vazquez, D. and Mansoori, G.A. 2000. Identification and Measurement of Petroleum Precipitates. *J. Petrol. Sci. and Engineering*, Vol. 26, pp 49-56.