

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Hidrokarbonoklastik dari Perairan Dumai dengan Sekuen 16S rDNA

Nursyirwani dan Kathy Copper Amolle

Jurusan Ilmu Kelautan, Faperika, Universitas Riau, Pekanbaru 28293

Abstrak

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan September sampai Desember 2006. Tujuan penelitian adalah untuk mempelajari karakteristik molekuler bakteri hidrokarbonoklastik yang diisolasi dari perairan laut Dumai berdasarkan sekuen 16S rDNA. Isolasi bakteri dilakukan pada media cair dan pada yang ditambahkan Sumatran crude oil. Karakteristik molekuler diperoleh melalui isolasi dan amplifikasi DNA dengan PCR dan sekuensing menggunakan ABI 3130 Genetic Analyzer. Dari 6 isolat yang dianalisis, hanya ada 3 isolat yang dapat disekuensing. Dari perbandingan dengan BLAST database, didapatkan kesamaan sekuen yang terdekat untuk isolat C_A (91%) adalah *Providencia vermicola*, isolat D_A (93%) adalah *Burkholderia cepacia*, dan isolat F_A (99%) adalah *Myroides odoratimimus*.

Kata kunci : Bakteri hidrokarbonoklastik, PCR dan 16S rDNA

Abstract

The research was conducted from September to December 2006. The aim was to study molecular characterization of hydrocarbonoclastic bacteria based on sequence 16S rDNA from Dumai waters. The bacteria was isolated in both broth and solid media added with the Sumatran crude oil. Molecular characterization included DNA isolation and amplification using PCR, and sequencing by ABI 3130 Genetic Analyzer. Three of six isolates were successfully sequenced. The comparison of 16S rDNA with known 16S rDNA sequences from BLAST database showed that the closest sequence similarity of isolate C_A (91%) was *Providencia vermicola*, isolate D_A (93%) was *Burkholderia cepacia*, and isolate F_A (99%) was *Myroides odoratimimus*.

Key words : Characterization, Hydrocarbonoclastic Bacteria, PCR, 16S rDNA

Pendahuluan

Aktivitas industri, baik yang berada dekat ke pantai maupun di areal lepas pantai belakangan ini semakin meningkat di perairan laut Riau. Hal ini dapat meningkatkan pencemaran lingkungan laut, seperti oleh minyak bumi yang dapat berasal dari limbah industri dan domestik, transportasi laut, penambangan lepas pantai dan pengilangan minyak. Pencemaran minyak bumi secara langsung atau tidak langsung dapat mempengaruhi kelangsungan hidup organisme laut, krusakan habitat dan kualitas lingkungan laut.

Perairan laut Dumai dan sekitar Muara Sungai Dumai merupakan areal aktivitas industri dan alur pelayaran yang cukup padat. Antara lain adalah tempat pengumpulan dan pengapalan minyak PT. Caltex Pacific Indonesia, Pertamina UP II Dumai, PT. Patra Dock, Kilang Minyak Kelapa Sawit Bukit Kapur Reksa dan PT. Sarana Sawitindo Utama. Aktifitas industri tersebut diduga dapat menghasilkan limbah yang dapat menimbulkan dampak pencemaran

lingkungan laut Dumai. Pencemaran minyak bumi pada sedimen pantai dan muara dapat dilihat dari warnanya yang kehitaman dan adanya *tar ball*.

Berbagai teknik telah digunakan untuk mencegah dan menanggulangi pencemaran minyak di perairan laut, baik secara fisika, kimia maupun biologi. Secara biologi, beberapa jenis bakteri laut telah diketahui mempunyai kemampuan dalam mendegradasi minyak. Ini didasarkan pada kenyataan bahwa dekomposisi komponen minyak bumi di lingkungan laut ditentukan oleh proses transformasi dan degradasi melalui aktivitas mikrobial. Lebih dari ratusan spesies bakteri menggunakan komponen kimia dari minyak bumi untuk menunjang pertumbuhan dan metabolismenya (Pavlova, 2006).

Jumlah bakteri yang mampu mendegradasi minyak bumi, terutama senyawa hidrokarbon (selanjutnya disebut bakteri hidrokarbonoklastik) melimpah di daerah yang tercemar. Feliatra (1995) telah berhasil mengisolasi bakteri *Acinetobacter sp.*,

Arthrobacter sp., *Micrococcus* sp., *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp., *Corinebacterium* sp. dan *Achromobacter* sp. dari perairan Selat Malaka. Hasil isolasi bakteri hidrokarbonoklastik pada sedimen Muara Sungai Dumai (Arsanti, 2006) diperoleh 87 isolat bakteri, yang mendekati ciri-ciri 15 genus, antara lain *Azotobacter* sp., *Alcaligenes* sp., *Chromobacterium* sp., *Planococcus* sp. dan *Micrococcus* sp.

Penggunaan bakteri hidrokarbonoklastik pada lingkungan yang tercemar minyak akan lebih efektif apabila bakteri tersebut berasal dari areal tercemar tersebut. Situs resmi dari *Institute for Coastal Marine Environment* (2006) menerangkan genus dari bakteri tersebut antara lain *Stenotrophomonas*, *Gluconobacter*, *Agrobacterium*, *Vibrio*, *Acinetobacter*, dan *Micrococcus*. Contoh turunannya termasuk *Pseudomonas pseudoalkaligenes*, *Phenyllobacterium*, *Gluconobacter cerinus*, *Agrobacterium radiobacter*.

Bakteri hidrokarbonoklastik tidak dapat diidentifikasi secara morfologi, fisika, kimia, biokimia saja, tetapi dengan menggunakan analisis rangkaian PCR-penggandaan 16S rDNA untuk mengetahui hubungan kekerabatannya antar jenis atau genus bakteri tersebut. Keunggulan PCR dalam hal kecepatan, spesifisitas dan sensitifitasnya dalam mendeteksi suatu mikroorganisme, menjadikan teknik ini sebagai 'method of choice' (Koesharyani et al., 2003).

Perbandingan sekuens 16S rDNA (gen 16S rRNA) merupakan alat yang berguna untuk mengetahui filogenetik dan evolusi diantara bakteri dan prokariot lain, karena gen ini mengandung sejumlah besar pola sekuens terkonservasi (*highly conserved sequence patterns*) (Artama, 2000), dan merupakan penyandi protein ribosom. Sekuens tersebut dapat pula dimanfaatkan untuk identifikasi dan klasifikasi, karena perbedaan sekuens pada gen yang sama dari suatu jasad akan dapat mengetahui aktivitas gen apabila gen tersebut adalah penyandi enzim-enzim yang esensial dalam metabolisme secara umum atau spesifik (Yuwono, 2006).

Teknik PCR didasarkan pada amplifikasi DNA spesifik dimana terjadi penggandaan jumlah molekul DNA pada setiap siklusnya secara eksponensial dalam waktu yang relatif singkat. Secara umum proses ini dapat dikelompokkan dalam tiga tahap yang berurutan yaitu denaturasi template, *annealing* (penempelan) pasangan primer pada untai tunggal DNA target dan *extension* (pemanjangan atau polimerisasi), sehingga diperoleh amplifikasi DNA antara $10^6 - 10^9$ kali (Abdullah et al., 2003).

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri hidrokarbonoklastik dari

perairan Dumai berdasarkan sekuens 16S rDNA. Hasil penelitian ini berupa tersedianya isolat murni bakteri hidrokarbonoklastik pada skala laboratorium.

Materi dan Metode

Sumber dan Isolasi Bakteri

Bakteri hidrokarbonoklastik diisolasi dari perairan laut Dumai, Provinsi Riau. Bakteri tersebut ditumbuhkan pada media cair yang terdiri dari: THAM atau Tris Hydroxymethyl Amino Methans (12 gr/ L), NaCl (20 gr/ L), KCl (1,0 gr/ L), $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1,5 gr/ L), $\text{MgCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (5 gr/L), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (6 gr/ L) dan NH_4Cl (4 gr/ L) yang dilanutkan dalam 1 liter aquades sebagai larutan pengencer (Media Zobell cair). Inokulum selanjutnya diinkubasi selama 13 hari.

Bakteri yang tumbuh pada media cair selanjutnya dipindahkan pada media padat yang terdiri dari yeast extract (5 gr/L), bactopecton (5 gr/L) dan nutrient agar (15 gr/L) yang dilarutkan dalam 1 liter aquades, elemen minor 2 ml, larutan vitamin 2 ml, dan minyak mentah jenis *Sumatran Light Crude Oil* dari Unit Pengolahan II Dumai sebagai sumber karbon. Selanjutnya inokulum diinkubasi pada suhu 30–35°C selama 24 jam. Isolat yang tumbuh digoreskan lagi pada media padat segar secara berulang-ulang hingga didapat isolat bakteri murni.

Isolasi dan amplifikasi DNA

Isolasi DNA bakteri hidrokarbonoklastik dilakukan melalui proses *freeze and thaw*. Dalam kondisi aseptis, tabung eppendorf 1,5 ml diisi dengan aquabidest 100 µl; kemudian kultur bakteri murni diambil sebanyak 1 ose dan diinokulasikan ke dalam tabung eppendorf tersebut. Selanjutnya suspensi sel dibekukan pada suhu -10 °C sampai larutan mengkristal lalu mencairkannya pada suhu 90 °C selama 10 menit. Pengulangan siklus untuk efisiensi pemecahan sel dilakukan sebanyak 5 kali. Selanjutnya dilakukan PCR dengan sekuens 16S rDNA menggunakan mesin Thermal Cycler. Untuk proses PCR 16S volume 10 µl, ke dalam tabung eppendorf 0,2 ml dimasukkan bahan-bahan sebagai berikut: Aquabidest 2 µl, Primer 27F 1 µl, Primer 1492R 1 µl, DNA template 1 µl, Megamix Royal 5 µl sehingga volume total=10 µl. Kemudian mesin *Thermal Cycler* dijalankan dan diprogram berdasarkan suhu: untuk proses *denaturasi* pada suhu 94 °C selama 2 menit; proses *annealing* dengan suhu 50 °C selama 40 detik, suhu 72 °C selama 1 menit dan suhu 94 °C selama 40 detik, dan pada proses *ekstensi* suhu diturunkan suhu 42 °C selama 1 menit dan pada suhu 72 °C selama 5 menit. Ketiga proses ini dijalankan sebanyak 30 siklus selama satu jam.

DNA yang telah diamplifikasi diuji dengan elektroforesis pada gel agarose 1% (untuk melihat fragmen DNA) dan gel agarose 2% (untuk mengetahui hasil purifikasi DNA) dalam TAE buffer solution 50x (Tris base 24, 2 g, asam asetat glacial 5,71 ml, Na₂EDTA-2H₂) 3,72 g, 100 ml akuades steril, pH 8).

PCR untuk Reaksi Sequensing. Untuk proses ini bahan-bahan yang dicampur adalah: *Aquabidest* 3 µl, Primer 2 µl, BigDye V3.1 4 µl, Template 1 µl, total volume menjadi 10 µl. Semua bahan dicampur menggunakan pipet. Selanjutnya larutan di *spin down* dengan sentrifugasi. Program PCR 16S universal dijalankan dengan perlakuan pada suhu 96°C selama 2 menit, kemudian pada suhu 96°C selama 10 detik, suhu 55°C selama 5 detik dan pada suhu 60°C selama 4 menit.

Analisis Sekuen

Sekuen DNA isolat bakteri hidrokarbonoklastik dibandingkan dengan sekuen DNA pada basis data (*database*) DNA. Penelusuran dilakukan dengan menggunakan internet melalui program pelacakan *database Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) pada *National Center for Biotechnology Information, National Institute for Health, USA* (www.ncbi.nlm.nih.gov) (Atschul et al., 1997).

Hasil dan Pembahasan

Identifikasi Bakteri Secara Morfologi, Sifat Fisika dan Kimia

Berdasarkan lokasi pengambilan sampel air dan isolasi, maka didapatkan 15 isolat bakteri hidrokarbonoklastik. Namun, berdasarkan beberapa perbedaan dan persamaan karakteristik dari setiap isolat, hanya dipilih 6 isolat berbeda untuk pengujian lanjutan (Tabel 1). Secara umum isolat bakteri yang didapatkan adalah bakteri Gram negatif dan bersifat motil (bergerak). Tipe sel bergandengan dan tunggal. Sel yang lebih banyak dijumpai berbentuk batang, bulat dan satu isolat dijumpai berbentuk spiral. Semua isolat bakteri bersifat katalase positif dan bersifat oksidase negatif.

Karakteristik Molekuler Bakteri Hidrokarbonoklastik

Dari hasil sekuensing, hanya ada tiga spesies yang terbaca oleh mesin *sequencer*. Satu dari tiga isolat lainnya, yaitu isolat F_A tidak terbaca, sedangkan isolat A_A dan B_A mengalami kerusakan. Homologi nukleotida tiga isolat yang terbaca, yaitu isolat C_A, D_A dan F_A seperti terlihat pada Gambar 1. Dari hasil penelusuran dan perbandingan dengan 16S rDNA dengan sekuen

16S rDNA yang sudah dikenal dari BLAST database, didapatkan kesamaan sekuen yang terdekat untuk isolat C_A (91%) adalah *Providencia vermicola*, isolat D_A (93%) adalah *Burkholderia cepacia*, dan isolat F_A (99%) adalah *Myroides obovatimimus*.

Menurut Radjasa (2004), jika homologi lebih dari 97 % spesies sama, diantara 93 % dan 97 % genus sama tapi berbeda spesies, dan bila lebih kecil dari 93 % kemungkinan spesies baru. Jadi bakteri isolat ketiga ini kemungkinan adalah spesies baru.

Providencia vermicola. Isolat C_A mendekati spesies *Providencia vermicola* dengan tingkat homologi sebesar 91 % dengan panjang basa sebesar 1489 bp, dan tipe strain: CIP 1022829, DSM 17385, OPl.

Berdasarkan NCBI Sequence Viewer v2.0, klasifikasi *P. vermicola* adalah sebagai berikut: Divisio Proteobacteria; Class Gammaproteobacteria; Ordo Enterobacteriales; Famili Enterobacteriaceae; Genus *Providencia*. Berdasarkan referensi pertama dari Kim (2006), bakteri ini diisolasi dari Nematoda entomopatogen *Butlerius* sp. Bakteri ini berbentuk tongkat lurus/ batang berflagella dengan ukuran 0,6-0,8 x 1,5-2,5 µm, merupakan Gram negatif dan motil walaupun lambat. Jenis bakteri ini merupakan kemoorganotropik dengan respirasi anaerob fakultatif dengan sistem respirasi aerob dan metabolisme tipe fermentasi. Glukosa dan karbohidrat lain dikatabolisme dengan reaksi asam dan memproduksi gas. *P. vermicola* tumbuh optimal pada temperatur 37 °C.

Burkholderia cepacia. Isolat D_A mendekati spesies *Burkholderia cepacia* dengan homologi sebesar 93%, panjang pasang basa sebesar 578 bp, dan taksonomi ID 292, dapat diklasifikasikan sebagai berikut: Divisio Proteobacteria; Class Betaproteobacteria; Ordo Burkholderiales; Famili Burkholderiaceae; Genus *Burkholderia*.

B. cepacia masih genomvar (satu genetik spesies yang sangat erat kekerabatannya) dengan *Pseudomonas*, yaitu *P. kingii*, *P. cepacia*, *P. multivorans*. *B. cepacia* berbentuk batang pendek dengan ukuran 0,5-1,0 x 1,5-5,0 µm, bersifat Gram negatif dan berwarna kuning kehijauan serta mempunyai kemampuan menghasilkan pigmen fluoresens bervariasi, yang menyebabkan pigmen berwarna kuning atau coklat. Pertumbuhan optimumnya pada suhu 30-35 °C, dan dapat tumbuh pada suhu 41 °C. Bakteri ini juga menghasilkan enzim oksidase dan dapat mereduksi nitrat menjadi nitrit tetapi tidak menghasilkan gas. *B. cepacia* juga mampu memanfaatkan sumber karbon: D-arabinosa; 2,3-butylene glikol, cellobiosa, citraconate, D-fucosa,

Tabel 1. Morfologi dan sifat kimia bakteri hidrokarbonoklastik dari perairan pantai Dumai

Parameter uji	IsolatA _A	IsolatB _A	IsolatC _A	IsolatD _A	IsolatE _A	IsolatF _A
Pewarnaan Gram	+	+	+	-	-	+
Uji motilitas	+	-	+	+	+	+
Pergandengan Sel	-	v	V	-	v	-
Bentuk koloni	batang	bulat	bulat	Batang	spiral	Batang
Warna koloni	putih	putih	pink	Putih	pink	Bening
Katalase	+	+	+	+	+	+
Oksidase	-	-	-	-	-	-

Keterangan:

Isolat A,B,C = Pertamina Isolat D = Patra Dock v = bergandengan
 Isolat E = Pelindo Isolat F = TPI

Isolat	Sekuen gen 16S rDNA
C _A	CTTTTCGGAGGCTTAAACTTGCAAGTCGAGCGGTAACACGGGAAGTTGGTTCTCTCGGAGGAGAGGGGGACGGGTGAGAAATGTGTGGG GAACCGCGCATAGAGGGGGAGATCTACTGTCAACGGTGGGTAATACCGTGATCTCTCTACGGCGGAGCAGGGGAACCTCCGTC CTGTCTCTCTTGTAAACCCCTATATCATATTATATAGTTGGAGGGAATAAGTCACACCAACGACACGATCGCGCTGGTCTGAGAGGATGATAC CCGACACTGGGACTGAGACACGGCCCCACTCCCTACGGAGGGCAGCTGGGGAATTTTGCATGGGGCAAACCTGATGCCCC ATTCGCGTGTAGAAAAGGGCTAGGGTGGGAAGTTTTTGTCCGGGAAACGTGGGGTAAAACATCTACGATTGGGTTTCCCCGA AAGAAAACCCCTTCCCACCCCTTACCGGGCGCAAAAATACCGAGGGCGCCGCTATTTAGATTTCTAGGCGAAACCACCC CGCCGCTGTCGGAATAAAATTTAATTATAACCCCACTCTTCTCT
D _A	ACTTGATCGCTCGAGCCACGTTGTGGACGGGTCGAGTAATATATTGGGAACGAGCCCAATATTAGGGGGATAACTACTCGAA AGAGGGGCCATGCCGCATACACCCCTACGGGGAAAGGGGGGATCTTTAGACCTCGCACTATTGGAGCAGCCGATATCGGATTA GCTAGTTGGTGGGTAAGGCTCACCAACGATGCGATGCGGTCTGGGAGGAAAGCCACACGCTGCTCCGGAATGAGAAACG GACCAGACTCCTACGGGAGGCAGAGGAATATAGTTTTGGACAATGGGGTATACCTGATCCTGCCACGTGCCGTGTGACATGA CTGTCTATTGTTTACTGAGTTTGTTTAGCAGAAAACAAAAGGTCGAGTAGGGACTTGACGTTACTTTACGATTCTGCTCAATAAA CACCGCTAACTACCTGCCATAATCCGGAGTAATACAGCGTGTGCCAGCGTTATTTCGGAATTACTGGGCGTAAAGCCGCGTGTAG GCGGTCTGAAAGAAAGATGTGACTCCCTAGGCTTAACTTTAATTCATCTTAGACTGCCGATCTAGAGGTGGCAGAGGGG GGAAGAATTCCA
F _A	CCCTTACCAAGGCCACTATGCAGTCGAGGGGTAGAAGAAGCTTGCTTTTTTGAGACCGGCGCACGGGGGAGTAACCGGTATG CAACCTACCTTATACAGGGGAATAGCCCCAAGAAATTCGGATTAATGCTCCATGGTTTATCGATATGGCATCGTATTGATAATAAAG ATTTATCGGTATAAGATGGGCATGCGTATCATTAGCTAGTTGGTGTGGTAACGGCATAGCAAGGCAACGGTGATTAGGGGTCCTGAGAA GGAGATCCCCCAGACTGGTACTGAGACACGGACAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGAGGAATATTGGTCAATGGAGGCA ACTCTGAACCAGCCATGCCCGGTGCAGGATGACGGTCCATGGATTGTAACTGCTTTTGTACAGGAAGAAACCTCCCTACGAGTAG GGACTTGACGGTACTGTAAGAATAAGGATCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGATCCGAGCGTTATCCG GAATTATTGGGTTTAAAGGGTTCGTAGCGCGCTTTGTAAGTCAGTGGTGAATTTCCCTAGCTTAACTAGGACACTGCCATGATACTGC AGAGCTTGAATAATATGGAAGTAAGTAACTAGTAATATGTAGTGTAGCGGTGAAATGCTTAGATATTACATGGAATACCAATTGCGAAGG

Gambar 1. Homologi sekuen nukleotida isolat CA, DA dan FA dengan BLAST Database.

glukosa, m-hydroxybenzoat, levulinat, manitol, mucate, DL ornithin, saccharate, sorbitol sukrosa, L-threonine, dan typtamine (Supriadi, 2006).

Bakteri *B. cepacia* diisolasi dari bawang busuk, tanah dan lingkungan klinis. Bakteri ini juga digunakan sebagai agens hayati, yaitu organisme yang digunakan untuk mengendalikan organisme pengganggu tumbuhan (OP), tetapi ada juga yang bersifat patogen pada tanaman dan dapat menimbulkan gangguan kesehatan yang serius pada manusia.

Myroides odoratimimus. Isolat F_A mendekati spesies *Myroides odoratimimus* dengan tingkat homologinya sebesar 99 %, dengan 1484 bp dan type strain: IMG 4029, NCTC 11180. Sehingga dapat dipastikan spesies yang tersebut adalah sama dengan

yang tercantum di NCBI, yang dapat diklasifikasikan sebagai berikut: Divisio Bacteriodes; Klas Flavobacteria; Ordo Flavobacteriales; family Flavobacteriaceae; genus *Myroides*. Bakteri jenis ini merupakan reklasifikasi dari *Flavobacterium odoratum* menjadi genus baru, *M. odoratus*, comb. nov. dan *M. odoratum* sp.nov. *M. odoratimimus* berbentuk tongkat dengan bagian ujung membulat dengan ukuran 0,5 x 1,0-3,0 µm dan tidak membentuk endospora. Bakteri ini ber dinding sel Gram negatif dan normotil.

Bakteri hidrokarbonoklastik, khususnya dari Riau, juga telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi. Antara lain, dari Sungai Pakning, diperoleh 10 isolat bakteri hidrokarbonoklastik, yaitu: *Acinetobacter baumannii*,

Alcaligenes eutrophus, *Bacillus* sp1., *Methylococcus capsulatus*, *Bacillus* sp2., *Morococcus* sp., *Pseudomonas diminuta*, *Xanthomonas albilineans*, *Bacillus cereus* dan *Flavobacterium branchiophila* (Zan, 2006). Sedangkan dari Rokan Hilir, isolat bakteri yang diperoleh dari minyak bumi Sumur Bangko yang diisolasi secara bertahap dengan menggunakan medium SMSSe (*Stone Mineral Salt Solution* yang mengandung ekstrak ragi) adalah *Bacillus polymyxa*, *B. licheniformis*, *Bacillus* sp.1, dan *Pseudomonas aeruginosa*, dari Tahap I; *Bacillus* sp.2, *B. stearothermophilus* dan *B. brevis* dari Tahap II; dan *B. coagulans* dari Tahap III. Jenis bakteri yang berbeda pada setiap tahap isolasi menunjukkan bahwa semua isolat bakteri yang diperoleh memiliki kemampuan menggunakan komponen yang berbeda di dalam *crude oil* (Pikoli et al., 2000).

Dari ketiga bakteri yang berhasil didapatkan dari perairan Dumai, dibandingkan dengan bakteri hidrokarbonoklastik dari dua lokasi penelitian di atas, maka tidak ada satu genus pun yang sama. Tetapi genus *Pseudomonas* masih genomovar dengan *Burkholderia*, dan *Flavobacterium* masih genomovar dengan *Myroides*, nama belakang spesies bakteri tersebut juga masih terdapat persamaan, yang menandakan hubungan kekerabatannya masih sangat dekat.

Berdasarkan KAN (Komite Akreditasi Nasional), hasil yang telah dicapai pada tahun anggaran 2003 telah dilakukan regenerasi isolat BLOC (*Biotechnology IEMIGAS Culture Collection*) sebanyak 50 isolat bakteri hidrokarbonoklastik yang telah terdaftar di FORKOMIKRO (Forum Komunikasi Kurator Koleksi Mikroorganisme Indonesia). Seluruh isolat tersebut terdiri atas beberapa jenis yaitu: *Neisseria* sebanyak 7 jenis; *Pseudomonas* 7 jenis; *Staphylococcus* 10 jenis; *Streptococcus* 5 jenis; *Bacillus* 7 jenis; *Alcaligenes* 2 jenis; *Flavobacterium* 3 jenis; *Corynebacterium* 3 jenis; *Enterobacter* 1 jenis dan *Micrococcus* 4 jenis.

Telah dilakukan identifikasi bakteri non-BLOC sebanyak 25 isolat yang telah siap didaftarkan ke FORKOMIKRO terdiri dari beberapa jenis yaitu: *Bacillus* sebanyak 5 jenis; *Acinetobacter* sebanyak 2 jenis; *Pseudomonas* sebanyak 3 jenis; *Marinomonas* sebanyak 1 jenis; *Methylococcus* sebanyak 2 jenis; *Providencia* sebanyak 3 jenis; *Aeromonas* sebanyak 5 jenis; *TaphyloSoccus* sebanyak 3 jenis; *Serratia* sebanyak 1 jenis. Sedangkan *Providencia vermicola* masuk dalam genus bakteri yang telah siap didaftarkan ke FORKOMIKRO.

Kesimpulan

Bakteri hidrokarbonoklastik yang diisolasi dari perairan Dumai dan diidentifikasi dengan analisis 16S rDNA ini adalah *Myroides odoratimimus* dengan homologi tertinggi yaitu sebesar 99 %, *Burkholderia cepacia* dengan homologi 93 % yang masih genomovar dengan *Pseudomonas*, dan *Providencia vermicola* dengan homologi 91 %. Spesies ini diduga merupakan spesies baru karena besarnya homologi tidak mencapai 93 %.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih disampaikan kepada Ketua Program Hibah Kompetisi A2 Jurusan Ilmu Kelautan yang telah menyediakan dana untuk melaksanakan penelitian ini. Juga, terimakasih kepada mahasiswa yang telah membantu pelaksanaan penelitian secara maksimal, Laboratorium Bioteknologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro, dan BPPT Serpong Jakarta yang telah memberikan kesempatan untuk penyelenggaraan penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Abdillah, C., D.S. Retroningrum. 2003. Deteksi Bakteri Patogen *Streptococcus pyogenes* dengan Teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Jurnal Natur Indonesia. Pekanbaru. 5 hal.
- Arsanti. 2005. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pengurai Minyak pada Sedimen di Muara Sungai Dumai. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. UNRI. Pekanbaru.. 81 hal. (tidak diterbitkan).
- Artama, . W.T. 2000. *Polymerase Chain Reaction* (PCR/RAPD). IUC for Biotechnology. Gadjah Mada University. Yogyakarta. 9 hal.
- Atschul, SF., T.L. Madden, A.A. Schaffer, J. Zhang, Z. Zhang, W. Miller and D.J. Lipman. 1997. Gapped BLAST and SI-BLAST: A New Generation of Protein Database Search Programs. *Nucleid Acid Res.* 25:3389-3402.
- Brahmana, S. dan M .Moelyo, . 2003. Penelitian Bioremediasi Sumber Air Tercemar Bahan Berbahaya dan Beracun. <http://www.google.co.id>. [21/02/07].
- Institute for Coastal Marine Environment*. 2006. Oil Eating Marine Bacteria, New Perspective for Bioremediation. <http://www.CNR-Institute IAMC.html>. [27/07/06].
- Komite Akreditasi Nasional. 2003. Inventarisasi dan Identifikasi Mikroorganisme di Lingkungan Industri Migas. www.google.co.id. [21/02/07].

- Kim, Y. 2006. Identification of Two Bacteria Isolated From an Entomopathogenic Nematode, *Butlerius* sp. HW101, and Their Insecticidal Efficacy. Andong, Korea. [No PubMed record available.].
- Koesharyani, I., A. Sunarto, A. Rukyani dan Taukhid. 2003. Prosedur PCR untuk Diagnosa Cepat, Penyakit Bercak Udang Putih pada Udang. Balai Budidaya Perairan Laut, Air Payau dan Tawar, DKP Jawa Barat. 30 hal.
- Pavlova, E. 2006. Oil Fate During Oil Spill in the Marine Environment. Eco-Monitoring Publishing. United States of America. <http://www.freepatensonline.com/6267888.html>. [27/07/06]
- Pertiwi, I.D. 2005. Bioremediasi Pelumas Bekas oleh Konsorsium Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon. Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati. ITB. Bandung. Ganesha Digital Library.
- Petunjuk Praktikum Bioteknologi. 2006. Jurusan Ilmu Kelautan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Diponegoro. 10 hal.
- Pikoli, M.R., P. Aditiawati, dan D.I. Astuti, 2000. Isolasi Bertahap dan Identifikasi Isolat Bakteri Termofilik Pendegradasi Minyak Bumi dari Sumur Bangko. Jurusan Biologi. ITB. Bandung. <http://www.bi.itb.ac.id/> [21/02/07].
- Radjasa, O.K. 2004. Deep-Sea Bacteria and Their Biotechnological Potentials. *Coast Dev.* 7:109-118.
- Supriadi. 2006. Analisis Risiko Agens Hayati untuk Pengendalian Patogen pada Tanaman. *Jurnal Litbang Pertanian*. Bogor. 80 hal.
- Yuwono, T. Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction (PCR). 2006. Andi. Yogyakarta. 231 hal.
- Zam, S.I. 2006. Bioremediasi Limbah Pengilangan Minyak Bumi Pertamina UP II Sungai Pakning dengan menggunakan Bakteri Indigen. Program Studi Bioteknologi, ITB. Bandung. Ganesha Digital Library.