



# Jurnal Ilmiah Biologi UMA (JIBIOMA)

Available online <http://iurnalmahasiswa.uma.ac.id/index.php/jibioma>

Diterima: 16 April 2020; Disetujui: 30 April 2020; Dipublish: 20 November 2019

## Isolasi dan Uji Bakteri Lipolitik dalam Mendegradasi Minyak Pada Limbah Cair Kelapa Sawit di Kebun Marihat, Pematang Siantar

### *Isolation and Testing of Lipolytic Bacteria in Oil Degradation of Palm Oil Mill Effluent (POME) at Marihat Pematang Siantar*

Chairunnisa\*, Riyanto, dan Abdul Karim

Program Studi Biologi, Fakultas Biologi, Universitas Medan Area, Indonesia

#### Abstrak

Telah dilakukan penelitian isolasi dan uji bakteri lipolitik dalam mendegradasi minyak pada limbah cair kelapa sawit di kebun Marihat Pematang Siantar. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioproses, Pusat Penelitian Kelapa Sawit Medan. Tujuan penelitian ini adalah untuk memperoleh isolat-isolat bakteri lipolitik dan mengetahui kemampuan bakteri lipolitik tersebut dalam mendegradasi minyak. Isolasi ini menggunakan media selektif agar lipolitik. Data analisa memperlihatkan bahwa terdapat 8 isolat bakteri lipolitik dalam limbah cair kelapa sawit dan berpotensi dalam mendegradasi minyak, yang ditunjukkan dengan nilai indeks aktivitas lipolitik isolat. Indeks lipolitik isolat terbesar dengan kode BL- 1 sebesar 2,78 dan Indeks lipolitik terendah BL-8 sebesar 1,40.

**Kata Kunci:** Bakteri Lipolitik, Limbah Cair Kelapa Sawit, Isolasi

#### Abstract

*Research on isolation and testing of lipolytic bacteria in oli degradation of palm oil mill effluent (POME) at Marihat, Pematang Siantar. This research was conduted at the Bioproses Laboratory, Palm Oil Research Institute, Medan. The purpose of this study was to obtain lipolytic bacterial isolates and determine the ability of these lipolytic bacteria to degrade oil. Isolation of bacteria using a selective medium lipolytic. Data of the analysis that were 8 isolates of lipolytic bacteria in pallm oil mill effluent and the potential to degrade oil with index activity of lipolytic isolates. The higgest lipolytic isolate index with code BL-1 is 2,78, and the lowest lipolytic index BL-8 is 1,40.*

**Keywords:** Lipolytic bacteria, Palm oil mill effluent, Isolation

\*E-mail: [chairunnisa134@gmail.com](mailto:chairunnisa134@gmail.com)



## **PENDAHULUAN**

Indonesia merupakan negara penghasil kelapa sawit dan mempunyai potensi yang cukup besar untuk pengembangan industri kelapa sawit. Luas areal perkebunan sawit terus mengalami peningkatan. Hal ini menyebabkan produksi minyak sawit mentah juga meningkat (Latief, 1991). Perkembangan industri kelapa sawit yang tumbuh cukup pesat ini mempunyai dampak positif dan negatif bagi masyarakat. Dampak positifnya adalah meningkatkan devisa bagi negara dan kesejahteraan masyarakat meningkat, sedangkan dampak negatifnya adalah menimbulkan limbah yang dapat mencemari lingkungan apabila tidak dikelola dengan baik.

Pengembangan industri kelapa sawit yang diikuti dengan pembangunan pabrik dapat menimbulkan dampak negatif pada lingkungan, baik terhadap kualitas sumber daya alam (berupa pencemaran) maupun lingkungan hidup. Hal tersebut disebabkan oleh jumlah limbah pabrik kelapa sawit (PKS) yang harus dibuang semakin bertambah. Limbah pada dasarnya adalah suatu bahan yang terbuang atau dibuang yang dihasilkan dari suatu proses produksi yang belum atau tidak memiliki nilai ekonomi.

Limbah industri kebanyakan menghasilkan limbah yang bersifat cair atau padat yang masih kaya zat organik yang telah mengalami peruraian, kebanyakan industri yang ada membuang limbahnya keperairan terbuka sehingga dalam waktu relatif singkat akan terjadi bau busuk sebagai akibat terjadinya fermentasi limbah.

Pada umumnya limbah cair kelapa sawit diolah secara fisika, kimia dan biologi, namun pengolahan tersebut memerlukan waktu yang cukup lama. Tanpa pengolahan yang baik perkembangan industri kelapa sawit yang pesat akan berakibat meningkatkan beban limbah yang diterima oleh lingkungan. Kandungan limbah yang dihasilkan didominasi oleh senyawa organik, meskipun ditemukan juga bahan anorganik. Hal ini ditunjukkan oleh konsentrasi BOD dalam limbah yang tinggi. Maka pemanfaatan mikroba pengurai dalam pengolahan limbah cair kelapa sawit merupakan pertimbangan yang tepat.

Salah satu mikroba pengurai dalam pengolahan limbah cair kelapa sawit yaitu bakteri lipolitik. Bakteri lipolitik adalah salah satu jenis mikroorganisme yang mengandung enzim lipase yang dapat mendegradasi minyak atau lemak. Minyak atau lemak adalah senyawa organik yang bersifat non polar dan merupakan senyawa ester dari triasiliserol (Lehninger, 1995).

Minyak atau lemak terdapat pada limbah cair pabrik kelapa sawit. Biasanya minyak atau lemak yang terdapat di permukaan air dapat menghambat masuknya cahaya matahari ke dalam air, lingkungan menjadi aerob, dan menghambat proses biologis dalam air. Enzim lipase yang terdapat dalam bakteri lipolitik dapat membantu menguraikan bahan organik berupa minyak secara cepat melalui pemutusan ikatan ester dari triasigliserol menjadi asam lemak dan gliserol yang larut dalam air (Nurhasanah & Dian, 2008).

Bakteri lipolitik merupakan bakteri yang membutuhkan konsentrasi lemak minimal tertentu untuk pertumbuhannya. Kelompok bakteri lipolitik memproduksi lipase, yaitu enzim yang mengkatalis hidrolisis lemak menjadi asam-asam lemak dan gliserol. Banyak bakteri yang bersifat aerobik dan proteolitik aktif juga bersifat lipolitik. Jenis yang mempunyai spesies bersifat lipolitik misalnya *Pseudomonas*, *Alcaligenesis*, *Serratia* dan *Micrococcus*. Salah satu contoh yang bersifat lipolitik kuat misalnya *P. Fluorescens* (Fardiaz, 1992).

#### **METODE PENELITIAN**

Penelitian ini dilaksanakan di Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS) Medan, Sumatera Utara. Penelitian dilakukan dengan metode difusi cakram dan analisis data secara deskriptif.

#### **Sampel Penelitian**

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah limbah cair kelapa sawit yang diambil dari kolam limbah Kebun Marihat, Pusat Penelitian Kelapa Sawit. Sampel diambil secara purposive sampling dengan 3 titik pada saluran keluar kolam. Sampel tersebut diambil dengan menggunakan botol steril dengan cara melepaskan tutup botol kemudian menenggelamkannya ke dalam kolam limbah, setelah terisi penuh segera diangkat ke permukaan dan ditutup kembali. Beberapa kriteria dan sampel yang diambil adalah berwarna coklat dan terlihat seperti adanya lapisan minyak di permukaan air limbah (Bestari dan Suharjono, 2015).

#### **Isolasi Bakteri Lipolitik**

Isolasi bakteri lipolitik dilakukan dengan menginokulasikan sampel pada media uji secara aseptis. Sampel diencerkan dengan seri pengenceran  $10^{-1}$  sampai  $10^{-7}$  (Swandi, dkk, 2015). Masing- masing pengenceran diinokulasikan ke dalam media uji dengan

metode cawan tuang. Bakteri yang berpotensi mendegradasi minyak ditandai dengan terbentuknya zona jernih disekitar koloni bakteri yang diinkubasi selama 48 jam.

Koloni dengan ciri berbeda (seperti warna, bentuk koloni, permukaan koloni) masing-masing dimurnikan dengan cara di-*streak* ke medium NA padat dalam cawan petri, lalu diinkubasi selama 2 x 24 jam. Teknik ini dilakukan secara berulang sampai diperoleh koloni yang diindikasikan murni. Jika belum memperoleh koloni yang murni, dilakukan kembali (ulangi), hingga mendapat koloni yang murni. Koloni murni adalah koloni yang bersasal dari satu sel saja. Koloni murni yang didapat diinokulasikan pada medium agar miring untuk mendapatkan isolat murni (Elyza, *dkk*, 2015).

### **Perhitungan Total Koloni Bakteri**

Perhitungan jumlah bakteri dilakukan dengan metode TPC (*Total Plate Count*). Prinsip dari metode hitungan cawan atau *Total Plate Count* (TPC) adalah menumbuhkan sel mikroorganisme yang masih hidup pada media agar, sehingga mikroorganisme akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dan dihitung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop.

### **Pengukuran Aktivitas Indeks Lipolitik**

Pengukuran aktivitas indeks bakteri lipolitik dilakukan untuk mengetahui potensi masing-masing isolat bakteri dalam mendegradasi lemak. Koloni yang tumbuh di media selektif agar dan membentuk zona jernih di sekitar koloni merupakan bakteri pendegradasi lemak. Diameter zona bening diukur 2 - 4 kali dengan memasukkan pengukuran diameter terendah dan terjauh (Oktavia dan Singgih, 2016). Isolat dengan nilai indeks lipolitik besar diasumsikan mempunyai aktivitas lipolitik yang tinggi (Oktavia dan Singgih, 2016). Menurut (Rizky *et al*, 2017), indeks lipolitik isolat dapat diukur dengan rumus :

$$\text{Indeks Lipolitik} = \frac{\text{diameter zona bening}}{\text{diameter koloni}}$$

### **Uji Konsorsium**

Uji konsorsium dilakukan dengan cara masing-masing isolat digoreskan bersinggungan satu sama lain menggunakan metode gores pada media selektif agar sehingga antar isolat akan bertemu. Kemudian diinkubasi selama 24 jam dan diamati apakah terdapat zona jernih atau zona hambat diantara dua isolat yang bersinggungan.

Isolat dikatakan kompatibel apabila terdapat zona penghambatan pada daerah pertemuan kedua isolat tersebut (Asri dan Enny, 2016).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil isolasi bakteri lipolitik dari limbah cair kelapa sawit diperoleh 8 jenis isolat. Hal ini didasarkan pada perbedaan morfologi koloni bakteri secara makroskopis. Kedelapan isolat yang didapat kemudian diberi kode BL-1, BL-2, BL 3, BL-5, BL-6, BL-7, dan BL-8. Berdasarkan karakter morfologi makroskopis koloni isolat yang tumbuh, diperoleh hasil seperti pada tabel 1 berikut ini.

Tabel 1. Karakter morfologi koloni isolat

Isolast	Karakteristik Makroskopis Isolat			
	Bentuk	Tepian	Warna	Elevasi
BL-1	Irregular	Undulate	Kuning	Flat
BL-2	Circular	Entire	Putih	Convex
BL-3	Circular	Entire	Krim	Raised
BL-4	Rouns	Entire	Krim	Growth into medium
BL-5	Circular	Entire	Putih	Growth into medium
BL-6	Curled	Entire	Krim	Growth into medium
BL-7	Curled	Entire	Putih	Raised
BL-8	Irregular	Undulate	Putih	Umbonate

Pada penelitian ini, isolat bakteri lipolitik didapatkan dari sampel limbah cair kelapa sawit yang ditumbuhkan pada media selektif agar lipolitik. Tween dalam komposisi media selektif lipolitik adalah nutrisi utama yang dibutuhkan bakteri lipolitik, dan uji degradasi minyak oleh lipolitik terlihat dari terdegradasinya tween yang ada dalam media lipolitik oleh bakteri lipolitik tersebut (Darmayasa, 2008).

Isolat dengan kode BL-1 berbentuk *irregular* (tidak beraturan), memiliki tepian *undulate* (bergelombang), berwarna kuning dan memiliki elevasi *flat* (datar). Isolat dengan kode BL-2 berbentuk *circular* (bulat), memiliki tepian *entire* (rata), berwarna putih dan memiliki elevasi *convex* (cembung). Isolat dengan kode BL-4 berbentuk *round* (bulat), memiliki tepian *entire* (rata), berwarna krim, dan memiliki elevasi *growth into medium* (tumbuh dibawah medium). Isolat dengan kode BL-5 berbentuk *circular* (bulat), memiliki tepian *entire* (rata), berwarna putih, dan memiliki elevasi *growth into medium* (tumbuh dibawah medium). Isolat dengan kode BL-6 berbentuk *curled*, memiliki tepian *entire* (rata), berwarna krim, dan memiliki elevasi *growth into medium* (tumbuh dibawah medium). Isolat dengan kode BL-7 berbentuk *curled*, memiliki tepian *entire* (rata), berwarna krim, dan memiliki elevasi *raised*. Isolat dengan kode BL-8 berbentuk *irregular*

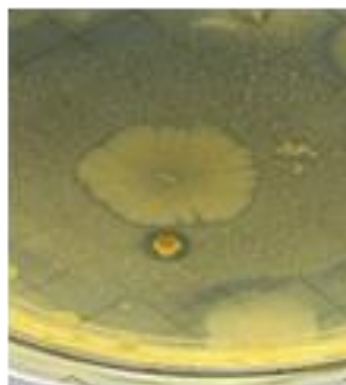
(tidak beraturan), memiliki tepian *undulate* (bergelombang), berwarna krim, dan memiliki elevasi *umbonate*.

Dari hasil isolasi didapatkan total sel bakteri yang ada pada limbah cair pabrik kelapa sawit adalah 2.600.000 cfu/ml. Salah satu cara untuk mengetahui kemampuan bakteri lipolitik dalam mendegradasi minyak adalah dengan mengetahui ukuran indeks lipolitiknya. Kedelapan isolat yang didapat ditumbuhkan ke media selektif agar, kemudian dilakukan pengamatan selama 24 jam. Indeks lipolitik dari delapan isolat tersebut adalah sebagai berikut :

Tabel 2. Nilai Indeks Lipolitik Isolat

Isolast	Karakteristik Makroskopis Isolat		
	Diameter koloni (mm)	Diameter zona jernih (mm)	Indeks lipolitik (mm)
BL-1	2,91	8,08	2,78
BL-2	6,15	9,49	1,54
BL-3	4,32	10,85	2,51
BL-4	2,96	7,75	2,62
BL-5	1,58	4,15	2,62
BL-6	4,87	9,95	2,04
BL-7	3,44	6,16	1,79
BL-8	4,31	6,03	1,40

Hasil penelitian menunjukkan kedelapan isolat membentuk zona jernih disekitar koloni pada media selektif agar lipolitik. Ukuran zona bening yang dihasilkan bervariasi. Isolat BL-1 memiliki index lipolitik sebesar 2,78, isolat BL-2 memiliki index lipolitik sebesar 1,54, isolat BL-3 memiliki indeks lipolitik sebesar 2,51, isolat BL-4 memiliki indeks lipolitik sebesar 2,62, isolat BL-5 mempunyai indeks lipolitik sebesar 2,62, isolat BL-6 mempunyai indeks lipolitik sebesar 2,04, dan isolat BL-7 mempunyai indeks lipolitik sebesar 1,79, isolat BL-8 mempunyai indeks lipolitik sebesar 1,40.



Gambar 1. Zona bening yang muncul pada media selektif lipolitik

Dari kedelapan isolat tersebut, isolat dengan kode BL-1 memiliki nilai index lipolitik tertinggi. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan isolat BL-1 lebih besar untuk mendegradasi minyak dibandingkan dengan ketujuh isolat lainnya.

Kemampuan degradasi bakteri ini berdasarkan proporsi keberadaan bakteri yang tumbuh membentuk daerah halo dan yang tidak pada medium. Semakin besar daerah halo yang terbentuk, maka semakin besar kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim ekstraseluler lipase untuk mendegradasi lipid. Hal ini dapat diduga bakteri yang hidup pada limbah cair industri minyak sawit adalah bakteri yang toleran terhadap minyak dan bakteri yang memanfaatkan sumber karbon dari minyak tersebut. Bala, *et al* (2014) menambahkan bahwa kemampuan mikroorganisme dalam mendegradasi tergantung kepada kemampuan mikroorganisme tersebut untuk beradaptasi dengan lingkungan.

Tahap selanjutnya adalah uji sinergis dan konsorsium dari kedelapan isolat. Hidup bersama (konsorsium) dapat meningkatkan produk metabolisme sehingga dapat dimanfaatkan untuk kepentingan yang berguna bagi manusia. Konsorsium merupakan campuran populasi mikroba dalam bentuk komunitas yang mempunyai hubungan kooperatif, komensal, dan mutualistik. Anggota komunitas yang mempunyai hubungan akan berasosiasi, sehingga lebih berhasil mendegradasi senyawa kimia dibandingkan isolat tunggal. Hubungan antar bakteri konsorsium dalam keadaan substrat yang mencukupi tidak akan saling mengganggu, tetapi saling bersinergi sehingga menghasilkan efisiensi perombakan yang lebih tinggi selama proses pengolahan (Asri dan Enny,2016). Dari hasil pengujian sinergis isolat didapat seperti pada tabel 3.

Tabel 3. Sinergis antar isolat lipolitik

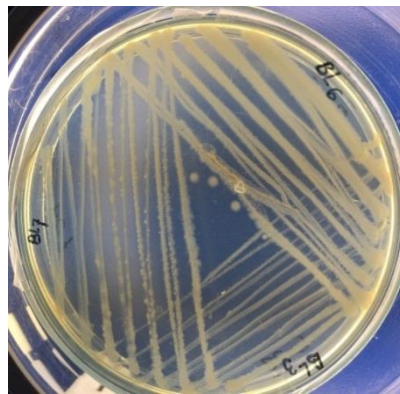
Isolat	BL-1	BL-2	BL-3	BL-4	BL-5	BL-6	BL-7	BL-8
BL-1	+	+	+	+	+	+	+	+
BL-2	+	+	+	+	+	+	+	+
BL-3	+	+	+	+	+	+	+	+
BL-4	+	+	+	+	+	+	+	+
BL-5	+	+	+	+	+	+	+	+
BL-6	+	+	+	+	+	+	+	+
BL-7	+	+	+	+	+	+	+	+
BL-8	+	+	+	+	+	+	+	+

Keterangan :

+ : Sinergis

- : Antagonis

Bedasarkan hasil penelitian uji sinergis antar 8 isolat yang dihidupkan bersama pada satu media agar selektif lipolitik, dan di inkubasi selama 24 jam yaitu isolat BL-1, BL-2, BL-3, BL-4, BL-5, BL-6, BL-7, dan BL-8 yang digunakan dapat bersinergi antar satu dengan lainnya. Dari hasil inkubasi selama 24 jam masing-masing isolat yang bersinggungan tidak membentuk zona jernih atau zona hambat.



Gambar 2. Uji sinergisme isolat

Konsorsium bakteri merupakan kumpulan bakteri yang bekerja sama membentuk suatu komunitas, untuk menghasilkan produk yang signifikan. Adanya kompatibilitas atau sinergisme dari dua bakteri atau lebih yang diinokulasikan merupakan faktor yang sangat penting supaya bakteri tersebut dapat bekerja sama dengan baik .

Bakteri dengan genus atau spesies yang sama dapat berinteraksi dan bersinergi, serta berbagi sumber nutrisi yang sama. Hal ini menunjukkan perilaku kooperatif antar bakteri dalam suatu habitat dalam bentuk konsorsium. Suatu konsorsium akan menghasilkan produk yang dapat dimanfaatkan bersama, sehingga dapat saling mendukung pertumbuhan isolat tunggal dan lainnya .

Mekanisme sinergisme antar isolat dalam konsorsium masih belum diketahui dengan pasti, namun beberapa penelitian menduga disebabkan karena beberapa faktor antara lain: (1) salah satu anggota genus mampu menyediakan satu atau lebih faktor nutrisi yang tidak dapat disintesis oleh anggota genus yang lain, (2) salah satu anggota genus yang tidak mampu mendegradasi bahan organik tertentu akan bergantung pada anggota genus yang mampu menyediakan hasil degradasi bahan organik tersebut, (3) salah satu anggota genus melindungi anggota genus lain yang sensitif terhadap bahan organik tertentu dengan menurunkan konsentrasi bahan organik yang bersifat toksik dengan cara memproduksi faktor protektif yang spesifik maupun non spesifik (Asri dan Enny, 2016).



## SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan delapan jenis isolat yang berpotensi dalam mendegradasi minyak. Dari kedelapan jenis isolat tersebut, isolat yang memiliki index lipolitik tertinggi adalah isolat BL-1 sebesar 2,78 dengan zona jernih sebesar 8,08 mm. Dan isolat yang memiliki index lipolitik terendah adalah isolat BL-8 sebesar 1,40 dengan zona jernih sebesar 6,03 mm. Kemudian dari uji konsorsium dan sinergisme isolat, delapan isolat yang dihidupkan bersama dapat bersinergis antar satu dengan yang lainnya

## DAFTAR PUSTAKA

- Asri, A. C., dan Enny, Z. (2016). *Sinergisme Antar Isolat Azotobacter Yang Dikonsorsiumkan*. Jurnal Sains dan Seni ITS, 5(2):E57-E59.
- Bala, J.D., Japareng, L. and Norli, I. (2014). *Biodegradation of Palm Oil Mill Effluent (POME) by Bacterial*. International Journal of Scientific and Research Publications, 4(3):1-10.
- Bestari, N.C., dan Suharjo. (2015). *Uji Kualitatif dan Kuantitatif Isolat Bakteri Lipolitik Dari Limbah Cair Pabrik Pengolahan Ikan Kecamatan Mucor Banyuwangi*. Jurnal Biotoprika, 3(3): 151-155.
- Darmayasa, I.B.G. (2008). *Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Lipid (Lemak) Pada Beberapa Tempat Pembuangan Limbah Dan Estuari DAM Denpasar*. Jurnal Bumi Lestari, 8(2): 122-127.
- Elyza, F., Nuni, G. dan Munawar. (2015). *Identifikasi dan Uji Potensi Bakteri Lipolitik Dari Limbah SBE (Spent Bleaching Earth) Sebagai Agen Bioremediasi*. Jurnal Ilmu Lingkungan, 13(1):12-18.
- Fardiaz, S., (2001). *Mikrobiologi Pangan I*. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Latief, S. (1991). *Analisis komposisi asam lemak minyak sawit yang dipercepat*. Berita Penelitian Perkebunan, 1 (1): 21-26.
- Lehninger, A.L. (1995). *Biochemistry Academic Press. Newyork*.
- Nurhasanah dan Dian H. (2008). *Pemurnian Enzim Lipase dari Bakteri Lokal dan Aplikasinya Dalam Reaksi Esterifikasi*. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi II. Universitas Lampung.
- Oktavia, D.A. dan Singgih W. (2016). *Penapisan dan Identifikasi Bakteri Lipolitik yang Diisolasi Dari Air Limbah Pengolahan Surimi dan Pengalengan Rajungan*. Jurnal Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, 11(2):147-158.