

Isolasi Bakteri Pendegradasi Limbah Cair Industri Minyak Sawit

Isolation of Degrading Bacteria of Palm Oil Mill Effluent (POME)

Monica Kharisma Swandi, Periadnadi^{*)} dan Nurmiati

Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Andalas, Limau Manis, Padang-25136

*)Koresponden : periadnadi@fmipa.unand.ac.id

Abstract

An isolation of degrading bacteria of Palm Oil Mill Effluent (POME) was conducted from May to October 2014 at the Laboratory of Microbiology, Department of Biology, Faculty of Natural Sciences, Andalas University. This study aimed to describe the characteristic of the bacteria which can degradate the POME. The result obtained five isolates ie BLS₁, BLS₂, BLS₃, BLS₄ and BLS₅ and their characters were rod-shaped (*basil*), gram-positive, motile, positive catalase and forming endospores.

Keywords: *isolation, characterization, degrading bacteria, POME*

Pendahuluan

Limbah cair industri minyak sawit mengandung zat organik dengan kadar yang tinggi, sehingga menyebabkan pencemaran di lingkungan sekitar pabrik pengolahan kelapa sawit. Industri minyak sawit telah mengupayakan pengolahan limbah cair yang dihasilkan dengan menerapkan sistem *lagoon* (kolam), namun pengoperasian sistem *lagoon* belum optimal sehingga outlet belum memenuhi baku mutu limbah cair. Dalam limbah cair industri minyak sawit terdapat mikroorganisme yang mempunyai potensi melakukan hidrolisis terhadap lemak dan minyak. Berdasarkan masalah ini perlu dilakukan penelitian terhadap bakteri pendegradasi limbah cair industri minyak sawit, sehingga hasilnya dapat digunakan dalam teknologi pengolahan limbah cair yang berwawasan lingkungan yang dikenal dengan teknologi bioremediasi.

Bioremediasi didefinisikan sebagai proses pemulihan secara biologi terhadap komponen lingkungan yang tercemar menjadi bentuk yang tidak mengandung racun (Munir, 2006). Salah satu tahap dalam teknik bioremediasi adalah biodegradasi. Proses biodegradasi limbah pada umumnya memanfaatkan populasi mikroorganisme atau produk-produk

lainnya seperti enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme itu sendiri dalam merombak senyawa organik yang ada didalam lingkungan tercemar secara alami (Jusfah, 1995). Penelitian tentang bakteri limbah cair industri minyak sawit telah dilakukan sebelumnya oleh Fandri (2006), yang mendapatkan 8 jenis bakteri lipolitik yang diisolasi dari limbah cair industri minyak sawit di PT. AMP Plantation, Kabupaten Agam, Sumatera Barat. Januar, Khotimah dan Mulyadi (2013), juga melaporkan pada limbah cair industri minyak sawit terdapat 9 isolat bakteri pendegradasi lipid dengan 1 isolat yang mampu menurunkan kadar lipid hingga 25%. Bala, Lalung dan Ismail (2014) juga mendapatkan strain *Bacillus cereus*103PB memiliki kemampuan biodegradasi dan dapat mengurangi polutan dari limbah industri minyak sawit. Bakteri ini memproduksi enzim ekstraseluler lipase sehingga dapat menurunkan kadar minyak dan lemak pada limbah.

Pengisolasian bakteri-bakteri pada limbah industri minyak sawit telah dilaporkan oleh beberapa *author*, namun masih sedikit literatur yang melaporkan pengisolasian bakteri yang berpotensi dalam mendegradasi limbah cair sekaligus

menggunakan limbah cair minyak sawit sebagai sumber nutrisi. Salah satu cara yang efektif untuk memperoleh bakteri yang berpotensi mendegradasi limbah cair adalah mengisolasi dengan media spesifik dalam pengujian kemampuannya. Oleh karena itu, sebagai alternatif pemecahan masalah pencemaran lingkungan akibat limbah cair industri minyak sawit, perlu dilakukan penelitian mengenai “Isolasi Bakteri Pendegradasi Limbah Cair Industri Minyak Sawit”. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh isolat-isolat bakteri pendegradasi limbah cair industri minyak sawit dan mengetahui karakter morfologi dan biokimia dari isolat-isolat pendegradasi limbah cair industri minyak sawit.

Metode Penelitian

Penelitian dilakukan dengan menggunakan metode survei terhadap keberadaan bakteri dan karakteristik isolat bakteri pendegradasi limbah cair industri minyak sawit dan data yang didapatkan dianalisis secara deskriptif.

Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian adalah limbah cair yang diambil dari kolam aerasi instalasi pengolahan air limbah (IPAL). Sampel diambil secara *purposive sampling* dengan 3 titik pada saluran keluar kolam. Sampel tersebut diambil menggunakan botol steril dengan cara melepaskan tutup botol kemudian menenggelamkannya kedalam kolam limbah, setelah terisi penuh segera diangkat ke permukaan dan ditutup kembali. Beberapa kriteria dari sampel yang diambil adalah berwarna kecoklatan dan terlihat seperti adanya lapisan minyak di permukaan air limbah.

Keberadaan Bakteri Pendegradasi Limbah Cair Industri Minyak Sawit

Pengisolasian terhadap bakteri pendegradasi limbah cair industri minyak sawit dilakukan melalui proses pengenceran bertingkat sampai 10^{-7} secara aseptis. Hasil pengenceran sampel ditanam ke dalam medium *Nutrient Agar* (NA) modifikasi (dimodifikasi dari Fardiaz, 1989) yang merupakan medium selektif untuk bakteri

lipolitik. Pengisolasian bakteri dilakukan dengan metoda *pour plate* untuk menumbuhkan bakteri yang berpotensi mendegradasi limbah cair industri minyak sawit yang ditandai dengan terbentuknya daerah halo disekitar koloni bakteri, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 72 jam (Cappuccino dan Sherman, 2005).

Karakterisasi Isolat Bakteri Pendegradasi Limbah Cair Industri Minyak Sawit

Karakterisasi isolat dilakukan secara morfologi dan biokimia. Karakter morfologi meliputi makroskopis koloni dengan mengamati bentuk, warna, elevasi, dan tepian koloni bakteri, sedangkan karakter morfologi mikroskopis sel bakteri dilakukan dengan pewarnaan Gram, sifat Gram (KOH 3%), pewarnaan endospora dan motilitas. Karakter secara biokimia dilakukan dengan uji katalase (Cappuccino dan Sherman, 2005).

Hasil dan Pembahasan

Keberadaan Bakteri Pendegradasi Limbah Cair Industri Minyak Sawit

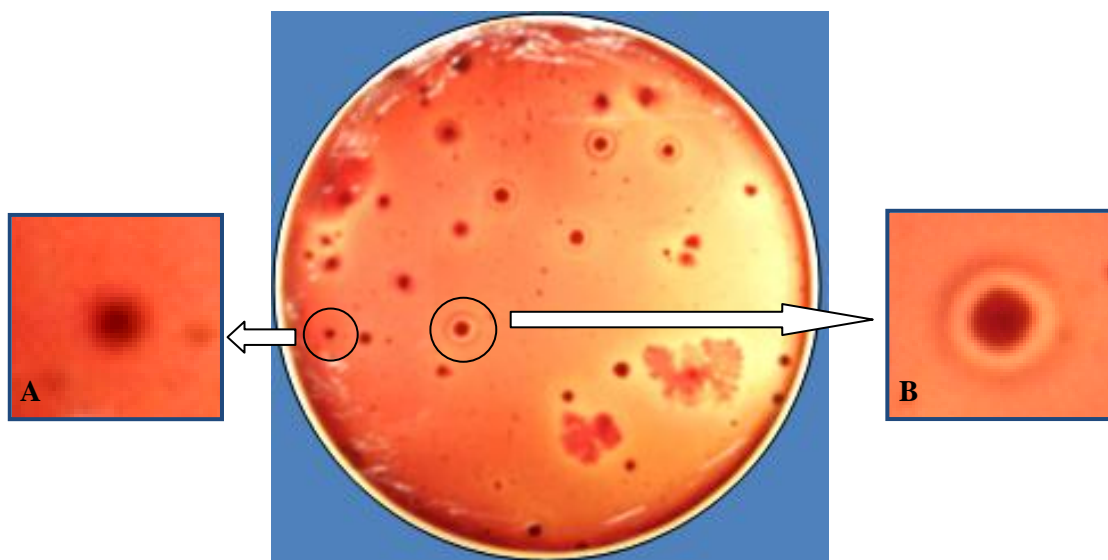
Bakteri yang berpotensi dalam mendegradasi limbah cair industri minyak sawit dapat dilihat dari kemampuan bakteri tersebut dalam mengubah substrat lipid yang terkandung di dalam medium NA modifikasi yang merupakan medium selektif untuk bakteri lipolitik, seperti pada Gambar 1. Bakteri lipolitik merupakan bakteri penghasil enzim lipase dalam menghidrolisis lipid menjadi asam lemak dan gliserol. Medium yang digunakan mengandung nutrisi yang dibutuhkan bakteri untuk pertumbuhannya, salah satunya minyak yang digunakan bakteri sebagai sumber karbon. Nurdini (2010), menambahkan bahwa bakteri lipolitik dapat ditemukan di banyak tempat yang mengandung minyak. Lingkungan yang mengandung minyak merupakan substrat yang baik terhadap bakteri lipolitik untuk tumbuh.

Pada proses pengolahan limbah, bakteri mengalami kesulitan dalam mendegradasi lipid karena prosesnya yang lambat dan membutuhkan jumlah oksigen yang banyak sehingga dibutuhkan suatu

enzim hidrolitik yang dihasilkan dari bakteri tersebut. Selain itu, bakteri hanya dapat menyerap bahan yang terlarut dalam air. Jika limbah mengandung bahan yang bersifat tidak larut dalam air, maka diperlukannya suatu medium yang mengandung suatu pengemulsi sehingga mengurangi tegangan permukaan, agar minyak dapat tercampur dengan air dan digunakan oleh bakteri untuk nutrisi pertumbuhan. Margarin yang terkandung pada medium merupakan substrat yang dibutuhkan bakteri lipolitik karena berfungsi sebagai sumber karbon untuk nutrisi bagi pertumbuhannya dan juga sebagai pengemulsi untuk meningkatkan biodegradasi lipid. Menurut Hutagalung (2009), margarin merupakan emulsi air dalam minyak karena *lechitin* yang terkandung di dalam margarin berfungsi

untuk mendispersikan molekul-molekul air ke dalam minyak/lemak.

Kemampuan degradasi bakteri ini berdasarkan proporsi keberadaan bakteri yang tumbuh membentuk daerah halo dan yang tidak pada medium (Tabel 1). 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.



Gambar 1. Keberadaan bakteri pendegradasi limbah cair industri minyak sawit menggunakan medium NA modifikasi pada suhu inkubasi 37°C; (A) Bakteri yang tidak membentuk daerah halo dan (B) Bakteri yang membentuk daerah halo.

Tabel 1. Proporsi Keberadaan Bakteri Limbah Cair Industri Minyak Sawit di Kolam Aerasi

Koloni Bakteri	Jumlah Bakteri ($\times 10^3$ cfu/ml)	Proporsi (%)
Membentuk daerah halo	2,0	51,3
Tidak membentuk daerah halo	1,9	48,7
Total	3,9	100

Hasil proporsi yang didapatkan menunjukkan kemampuan bakteri yang ditemukan pada limbah cair industri minyak sawit dalam mendegradasi minyak. Bakteri yang dapat membentuk daerah halo merupakan bakteri yang dapat mendegradasi minyak karena adanya indikasi aktivitas enzim ekstraseluler lipase yang dihasilkan oleh bakteri tersebut. Sedangkan bakteri yang tidak membentuk daerah halo merupakan bakteri yang toleran pada lingkungan yang mengandung minyak. Bakteri yang tidak membentuk daerah halo berkemungkinan bisa mendegradasi minyak, namun bakteri tersebut belum bisa mengekspresikan adanya indikasi aktivitas enzim ekstraseluler lipase yang dihasilkan oleh bakteri tersebut. Hal ini disebabkan karena indikator pada medium yaitu *neutral red*, mampu mendeteksi keberadaan asam lemak yang terbentuk akibat dari hidrolisis lemak. Dengan adanya keberadaan asam lemak, maka terjadi penyerapan warna indikator disekeliling koloni bakteri, sehingga terbentuknya daerah halo dan mengakibatkan koloni bakteri berwarna merah. Murray *et al.* (1999) menambahkan bahwa reaksi positif terhadap bakteri lipolitik terjadi apabila koloni bakteri berwarna merah. Hal ini terjadi karena indikator *neutral red* akan menghasilkan warna merah bila dalam situasi asam. Asam berarti mempunyai pH rendah. Suasana asam ini terjadi akibat adanya reaksi hidrolisis menjadi asam-asam lemak bebas dan gliserol oleh bakteri lipolitik tersebut. Hal ini juga membuktikan bahwa keberadaan bakteri pendegradasi limbah cair industri minyak sawit dipengaruhi oleh ketersediaan nutrisi yang terkandung di dalam medium. Selain faktor tersebut, juga dipengaruhi oleh berbagai faktor lingkungan seperti suhu, pH, kadar oksigen dan kadar bahan organik (Suriawiria, 1995). Kristanto (2004), juga menambahkan tingginya kandungan bahan organik dapat menurunkan kadar oksigen sehingga dapat menghambat pertumbuhan organisme.

Pengukuran suhu pada kolam aerasi di lokasi pengambilan sampel yaitu 38⁰C dan nilai pH yang didapatkan 7,14. Kondisi pH pada kolam aerasi telah memenuhi baku mutu limbah cair yang telah ditetapkan. Namun, tidak ada kisaran suhu yang dijadikan standar baku mutu limbah cair. Ditjen PPHP (2006), menambahkan kisaran pH untuk limbah cair industri minyak sawit adalah 6,0 – 9,0.

Berdasarkan hasil jumlah keberadaan bakteri, sebanyak 20 koloni bakteri yang membentuk daerah halo. Dipilih 5 koloni bakteri yang membentuk daerah halo terbesar, mempunyai morfologi berbeda satu sama lainnya dan tumbuh dominan untuk diketahui karakter dari isolat-isolat tersebut. Kelima isolat terpilih adalah isolat BLS₁, BLS₂, BLS₃, BLS₄, dan BLS₅

Karakter Morfologi dan Biokimia Isolat-isolat Pendegradasi Limbah Cair Industri Minyak Sawit

Secara keseluruhan karakteristik bakteri dapat dilihat pada Tabel 2. Setiap isolat memiliki morfologi makroskopis koloni bakteri yang berbeda dan mikroskopis sel bakteri yang sama. Hal ini menunjukkan bahwa karakter makroskopis koloni bakteri belum bisa menggambarkan suatu jenis bakteri, karena belum tentu secara mikroskopis sel bakteri dan biokimia mendapatkan hasil yang sama. Karakter makroskopis koloni bakteri merupakan karakter yang tampak secara visual yang berkemungkinan dipengaruhi oleh faktor lingkungan, seperti substrat yang digunakan sebagai medium dan suhu inkubasi.

Karakter morfologi mikroskopis sel bakteri terhadap 5 isolat yang didapatkan memiliki karakter yaitu bentuk sel bakteri basil dan memiliki sifat Gram positif yang ditandai dengan terbentuknya warna ungu pada sel bakteri. Sifat Gram positif ini diperkuat dengan hasil uji sifat Gram (uji KOH 3%) yang menghasilkan bahwa tidak berlendirnya bakteri setelah ditetesi KOH 3% pada kaca objek. Hal ini menandakan bahwa sifat Gram yang terdapat pada bakteri adalah Gram positif.

Tabel 2. Karakter Isolat Pendegradasi Limbah Cair Industri Minyak Sawit di Kolam Aerasi

Karakter	Isolat				
	BLS ₁	BLS ₂	BLS ₃	BLS ₄	BLS ₅
1. Makroskopis					
a. Bentuk Koloni	<i>Circular</i>	<i>Rhizoid</i>	<i>Filamentous</i>	<i>Irregular</i>	<i>Irregular</i>
b. Tepian Koloni	<i>Entire</i>	<i>Lobate</i>	<i>Filamentous</i>	<i>Undulate</i>	<i>Undulate</i>
c. Elevasi Koloni	<i>Raised</i>	<i>Raised</i>	<i>Flat</i>	<i>Raised</i>	<i>Convex</i>
d. Warna Koloni pada Medium <i>Nutrient Agar</i>	Putih Kekuningan	Putih Kekuningan	Putih Kekuningan	Putih Kekuningan	Putih Kekuningan
2. Mikroskopis					
a. Bentuk Sel	<i>Rod (Basil)</i>	<i>Rod (Basil)</i>	<i>Rod (Basil)</i>	<i>Rod (Basil)</i>	<i>Rod (Basil)</i>
b. Susunan Sel	<i>Strepto</i>	<i>Strepto</i>	<i>Strepto</i>	<i>Strepto</i>	<i>Strepto</i>
c. Gram	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif
d. Tipe Endospora	<i>Central</i>	<i>Central</i>	<i>Subterminal</i>	<i>Subterminal</i>	<i>Terminal</i>
e. Motilitas	Motil	Motil	Motil	Motil	Motil
3. Biokimia					
a. Uji Katalase	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif

Pada uji pewarnaan endospora diperoleh hasil bahwa kelima isolat dapat membentuk spora dengan tipe endospora yang berbeda-beda. Isolat BLS₁ memiliki karakter tipe endospora *central*, isolat BLS₂ dengan tipe *central*, isolat BLS₃ dengan tipe *subterminal*, isolat BLS₄ dengan tipe *subterminal* dan isolat BLS₅ dengan tipe *terminal*. Fardiaz (1989) menambahkan bahwa spora dibentuk oleh spesies bakteri yang termasuk dalam genera *Clostridium* dan *Bacillus* untuk mengatasi lingkungan yang tidak menguntungkan bagi bakteri. Prinsip dari pewarnaan endospora digunakan untuk membedakan spora dari sel vegetatif. Zat warna yang digunakan yaitu *malachite green* yang akan tetap diikat oleh spora bakteri dan sebagai *counterstain* digunakan safranin. Endospora yang masih terdapat di dalam sel vegetatif maupun spora bebas akan berwarna hijau-biru, sedangkan sel vegetatif akan berwarna merah sampai merah muda.

Pada pengujian motilitas bakteri menunjukkan bahwa kelima isolat bakteri yang diisolasi dari limbah cair industri minyak sawit bersifat motil. Hal ini dapat dilihat dari pertumbuhannya yang menyebar pada medium NA semisolid. Pada uji katalase diperoleh hasil bahwa kelima isolat bereaksi positif terhadap uji

katalase yang ditandai dengan terbentuknya gelembung udara pada kaca objek setelah ditetesi dengan larutan 3% H₂O₂. Hal ini menandakan bahwa kelima isolat bersifat aerobik dan memiliki enzim yang menghidrolisis peroksida (katalase). Locke *et al.* (2013) menambahkan bahwa katalase adalah enzim yang dapat mengkatalisasi penguraian hidrogen peroksida (H₂O₂) menjadi air dan O₂. Hidrogen peroksida bersifat toksik terhadap sel karena bahan ini dapat menginaktivasi enzim dalam sel. Uji ini penting dilakukan untuk mengetahui sifat bakteri terhadap kebutuhan akan oksigen.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka didapatkan kesimpulan sebagai berikut:

1. Di dalam limbah cair industri minyak sawit diperoleh 51,3% ($2,0 \times 10^3$ cfu/ml) bakteri yang berpotensi mendegradasi dan 48,7% ($1,9 \times 10^3$ cfu/ml) bakteri yang tidak berpotensi.
2. Lima isolat mempunyai potensi sebagai pendegradasi dengan karakter: berbentuk basil, Gram-positif, mempunyai endospora, motil dan katalase positif.

Ucapan Terima Kasih

1. Kepada Dr. Dewi Imelda Roesma, Dr. Anthoni Agustien dan Dr. Fuji Astuti Febria yang telah memberikan masukan, saran dan kritikan selama penelitian berlangsung dan dalam proses penulisan artikel ini.
2. Kepada Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi (Ditjen DIKTI) Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan dengan Surat Keputusan Dirjen DIKTI Nomor 0263/E5/2014 atas bantuan dana hibah penelitian PKM-P tahun 2014.

Daftar Pustaka

- Bala, J. D., J. Lalung and N. Ismail. 2014. Biodegradation of Palm Oil Mill Effluent (POME) by Bacterial. *International Journal of Scientific and Research Publications, Volume 4, Issue 3, March 2014 I ISSN 2250-3153*.
- Cappucino, J.G dan N. Sherman. 2005. *Microbiology a Laboratory Manual 7thEd.* Pearson Education, Inc. Publishing as Benjamin Cummings. San Francisco. CA.
- Ditjen PPHP. 2006. *Pedoman Pengelolaan Limbah Industri Kelapa Sawit*. Subdit Pengelolaan Lingkungan Direktorat Pengolahan Hasil Pertanian. Departemen Pertanian.
- Fandri, W. 2006. *Identifikasi Bakteri Lipolitik pada Instalasi Pengolahan Limbah Cair Industri Kelapa Sawit PT. AMP Plantation*. [Skripsi]. Universitas Andalas. Padang.
- Fardiaz, S. 1989. *Penuntun Praktek Mikrobiologi Pangan*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hutagalung, L. E. 2009. *Penentuan Kadar Lemak dalam Margarin dengan Metode Ekstraksi Sokletasi di Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan Medan*. Karya Ilmiah Program Studi Diploma-3 Kimia Analisis. FMIPA. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Januar, W., S. Khotimah dan A. Mulyadi. 2013. Kemampuan Isolat Bakteri Pendegradasi Lipid dari Instalasi Pengolahan Limbah Cair PPKS PTPN-XIII Ngabang Kabupaten Landak. *Jurnal Protobiont 2013 Vol 2 (3): 136 – 140*.
- Jusfah, J. 1995. *Peranan Mikroorganisme dalam Pengelolaan Limbah untuk Mengatasi Pencemaran Lingkungan*. Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar Tetap dalam Bidang Biologi FMIPA Universitas Andalas. Padang.
- Kristanto, P. 2004. *Ekologi Industri*. LPPM Universitas Kristen PETRA, Surabaya dan Penebit Andi, Yogyakarta.
- Locke, T., S. Keat, A. Walker and R. Mackinnon. 2013. *Microbiology and Infectious Diseases on The Move*. Diterjemahkan oleh Akbarini, R. PT. Indeks. Jakarta.
- Munir, E. 2006. *Pemanfaatan Mikroba dalam Bioremediasi: Suatu Teknologi Alternatif untuk Pelestarian Lingkungan*. Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar Tetap dalam Bidang Mikrobiologi FMIPA Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Murray, R. K., D. K. Granner, P. A. Mayes dan V. W. Rodwell. 1999. *Biokimia Harper*. Penerbit buku kedokteran EGC. Jakarta.
- Nurdini, A.L. 2010. *Penapisan Bakteri Lipolitik Asal Fruktosfer Kelapa Sawit*. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Suriawiria, U. 1995. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Penerbit Angkasa. Bandung.