JURNAL

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENGHASIL BIOSURFAKTAN DARI KOLAM *Contact Pond* IPAL INDUSTRI MINYAK SAWIT

OLEH :

RAYNALDO EMPINDONTA SEMBIRING

FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN
UNIVERSITAS RIAU
PEKANBARU
2019

Isolation and Identification of Biosurfacting Bacteria from the Contact Pond of WWTP Palm Oil Industry Pond

By
Raynaldo Empindonta Sembiring[1)], M. Hasbi[2)], Budijono[2)]
Faculty of Fisheries and Marine, Riau University
Email: raynaldoempindontasembiring@gmail.com

Abstract

Biosurfactants are surfactants produced by bacteria capable of degrading oil in water. This study aims to obtain bacteria that can produce biosurfactants from the Contact Pond of IPAL palm oil industry PT. Eka Dura Indonesia, Kota Lama, Rokan Hulu Regency, which was held from April to July 2019. The procedure for the implementation, first, the sample was diluted and enriched using BHI (Brain Heart Infusion) media for 24 hours. Based on the results of the study found 3 isolate of bacteria. The three bacteria are bacteria that can produce bio surfactants with an emulsification index of Isolate D1 41.81%, Isolate D2 43.6%, and Isolate D3 32.72%.

Keywords: Bio surfactants, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, and *Enterobacter aerogenes*

---

1) Student of the Faculty of Fisheries and Marine, University of Riau
2) Lecturer of the Faculty of Fisheries and Marine, University of Riau

Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penghasil Biosurfakan dari Kolam *Contact Pond* IPAL Industri Minyak Sawit

Oleh :

Raynaldo Empindonta Sembiring[1)], M. Hasbi[2)], Budijono[2)]
Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Riau
Email : raynaldoempindontasembiring@gmail.com

Abstrak

Biosurfaktan merupakan surfaktan yang dihasilkan oleh bakteri yang mampu mendegredasi minyak diperairan. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh bakteri yang mampu menghasilkan biosurfaktan dari kolam *Contact pond* IPAL industri minyak sawit PT. Eka Dura Indonesia, Kota Lama, Kabupaten Rokan Hulu. Penelitian dilaksanakan pada bulan April-Juli 2019. Sampel kemudian diencerkan dan dikayakan menggunakan media BHI (*Brain Heart Infus*) selama 24 jam. Kemudian bakteri diidentifikasi secara morfologi, biokimia dan metode 18S rDNA. Penelitian diperoleh 3 isolat bakteri. Ketiga isolat bakteri tersebut merupakan bakteri yang mampu menghasilkan biosurfaktan dengan indeks emulsifikasi Isolat D1 41,81%, Isolat D2 43,6%, dan Isolat D3 32,72%.

Kata kunci : Biosurfaktan, *Proteus vulgaris, Proteus mirabilis* dan *Enterobacter aerogenes*

---

1) Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau
2) Dosen Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

PENDAHULUAN

Biosurfaktan merupakan surfaktan yang dihasilkan oleh bakteri yang mampu mendegradasi kandungan minyak di perairan (Kurniati, 2016). Surfaktan (*surface active agent*) merupakan molekul amfifatik yang terdiri atas gugus hidrofobik dan hidrofilik sehingga dapat berada diantara cairan dengan sifat polar dan ikatan hydrogen yang berbeda seperti minyak dan air. Surfaktan mampu mereduksi tegangan permukaan dan membentuk mikoemulsi sehingga hidrokarbon dapat larut dalam air atau sebaliknya (Desai dan Banat, 1997).

Menurut Ilori *et al*. (2005) Surfaktan yang disintesis secara kimia telah digunakan dalam industri minyak untuk membantu membersihkan tumpahan minyak serta untuk meningkatkan pemulihan minyak dari reservoir minyak. Senyawa ini tidak dapat terurai secara hayati dan dapat menjadi racun bagi lingkungan. Biosurfaktan memiliki keunggulan khusus dibandingkan surfaktan kimia yang diproduksi secara komersial karena toksisitasnya yang rendah, sifatnya yang dapat terbiodegradasi, dan efektifitas pada suhu ekstrem, pH, salinitas, dan kemudahan sintesis.

Banyak bakteri yang dapat menghasilkan biosurfaktan yang memungkinkan mereka untuk mendegradasi atau mengubah senyawa organik yang tidak larut seperti halnya produk minyak sawit. Oleh karena itu, daerah yang tercemar minyak dan limbah industri berpotensi sebagai sumber bakteri penghasil biosurfaktan dan pendegradasi hidrokarbon. Penelitian ini difokuskan pada isolasi bakteri penghasil biosurfaktan dari IPAL Industri minyak sawit.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April – Juli 2019 di IPAL "Instalasi Pengolahan Air Limbah" industri minyak sawit yang berlokasi di PT. Eka Dura Indonesia, Kota Lama, Rokan Hulu, Provinsi Riau.

Posedur Penelitian

Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan dengan menggunakan metode *Purposive sampling*. Pengambilan sampel dilakukan pada 5 titik yang dianggap mewakili seluruh lokasi dan kemudian dikompositkan. Sampel diambil menggunakan gayung dengan tangkai panjang pada kolam *Contact Pond* dan dimasukkan kedalam wadah botol kaca dengan volume 500 mL hasil komposit, kemudian botol sampel tersebut dimasukan kedalam *coolbox* yang telah diisi es batu agar suhu pada *coolbox* tersebut mendekati suhu 4 ^{o}C dimana guna untuk mengawetkan sampel sebelum dilakukan isolasi dan identifikasi.

Parameter Kualitas Air

Parameter lingkungan yang diukur langsung di kolam yaitu meliputi suhu menggunakan *Thermometer* dan pH (Derajat Keasaman) dengan menggunakan pH meter. Pengukuran pH merujuk kepada SNI 06-6989.11-2004 dimana derajat Keasaman (pH) perairan diukur dengan menggunakan pH meter. Alat tersebut akan dimasukkan kedalam kolam kemudian dicatat angka yang ditunjukkan pada pH meter. Pengukuran suhu merujuk kepada SNI 06-6989.1-2004 dimana suhu perairan diukur dengan menggunakan *Thermometer*. Alat

tersebut akan dimasukkan kedalam kolam kemudian dicatat angka yang ditunjukkan pada *Thermometer*.

Pengayaan Bakteri

Kemudian dilakukan pengayaan bakteri dengan cara sampel air sebanyak 5 ml dimasukkan kedalam botol kaca gelap 100 ml dimana didalamnya sudah terdapat larutan NaCL sebanyak 45 ml. Kemudian 1 ml air sampel yang telah dihomogenkan dimasukkan kedalam media *Brain Heart Infus* (BHI). Setelah itu botol BHI di bolak-balik menyerupai anka delapan lalu dimasukkan kedalam *incubator shaker* dan diinkubasi serta diaduk dengan kecepatan 200 rpm selama 24 jam sampai bakteri tumbuh.

Pengenceran

Sampel yang telah dikayakan diencerkan hingga pengenceran 10^{-6} kali secara *aseptic* (steril) dengan larutan 0,98% Natrium Chlorida steril. Sampel yang telah dikayakan tersebut diambil sebanyak 1 mL dengan pipet tetes dan dimasukkan kedalam tabung reaksi berisi 9 ml larutan pengencer. Selanjutnya sampel diambil sebanyak 1 ml dari pengenceran 10^{-1} lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi untuk membentuk pengenceran 10^{-2}. Demikian juga prosedurnya hingga sampai pada pengenceran 10^{6}.

Penghitungan Jumlah Koloni Bakteri

Perhitungan jumlah bakteri yang tumbuh dilakukan secara aseptis juga dengan mengambil 1 ml dari pengenceran 10^{-4} hingga 10^{-6}. Kemudian dari pengenceran tersebut disemprotkan pada kertas *Pertrifilm* dan dilakukan *pressing* menggunakan *Aplication petrifilm* guna untuk menekan sampel agar meresap pada kertas tersebut dan memberi batasan sehingga tidak keluar dari petakan kertas.Setelah ketiga pengencer di*pressing* selanjutnya kertas *petrifilm* tersebut diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37 ^{0}C. Setelah tumbuh dihitung bakteri secara manual dengan menggunakan rumus pada buku Atlas Bewarna Mikrobiologi Kedokteran (Hart *and* Shears, 1997).

Penanaman Bakteri

Sampel yang telah diencerkan pada pengenceran 10^{-4}, $10^{-}5$, dan 10^{-6} kemudian diambil dan digores secara zig-zag dengan menggunakan jarum ose masing masing pengenceran pada media uji berupa 1 *Blood Agar* dan 1 *MacConkey Agar*. Kemudian sampel yang telah digores diinkubasi selama 2 x 24 jam hingga bakteri tumbuh. Setelah tumbuh amati jenis koloni bakteri berdasarkan warna yang dihasilkan pada media. Diduga bakteri yang memiliki karakteristik yang berbeda adalah bakteri dengan jenis berbeda dan selanjutnya dilakukan sub kultur untuk memurnikan bakteri.

Pada Sub kultur media *Blood* Agar dan *MacConkey* Agar yang kosong disiapkan. Bakteri yang telah ditumbuhkan diamati dan dikarakterisasi secara visual dengan penandaan untuk mempermudah dalam membedakan isolat bakteri. Dipilih satu-persatu jenis isolat yang berbeda dan di oles sedikit dengan *ose* dan di gores lagi pada media yang baru secara aseptis. Dilakukan inkubasi selama 2 x 24 jam dengan posisi cawan petri terbalik. Setelah itu dapat dilakukan tahapan selanjutnya.

Uji Emulsifikasi Bakteri

Uji ini dilakukan dengan cara isolat bakteri sebanyak 1 *ose* dimasukkan kedalam 4 ml NaCL dan 4 ml minyak sawit. kemudian divorteks selama 2 menit. Setelah itu didiamkan selama 1 x 24 jam agar busa yang dihasilkan stabil. Setelah stabil di ukur tinggi dari busa yang terdapat pada tabung reaksi. Apabila isolat bakteri menghasilkan busa, maka bakteri tersebut adalah bakteri biosurfaktan karena mengandung emulsi dari pencampuran dengan minyak sawit. Kemudian diukur indeks emulsifikasi dengan menggunakan rumus (Cooper dan Goldenberg., 1987).

$$\text{IE (24)} = \frac{Tinggi\ Lapisan\ Emulsi}{Tinggi\ Total\ Larutan\ (Larutan\ Inokulum\ dan\ Minyak\ sawi}$$

Analisis Data

Data hasil isolasi dan seleksi bakteri penghasil biosurfaktan dari sampel air limbah kolam *Contact pond* IPAL industri minyak sawit yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan gambar. Kemudian data diuraikan secara deskriptif, artinya data yang diperoleh akan diulas dalam bentuk naratif dengan berpedoman pada rujukan yang ada.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah Bakteri

Perhitungan jumlah bakteri merujuk pada buku Atlas Bewarna Mikrobiologi kedokteran (Hart *and* Shears, 1997). Berdasarkan penelitian yang dilakukan perhitungan jumlah bakteri dilakukan pada pengenceran 10^{-5} dengan jumlah bakteri sebanyak 12,2 x 10^{6} CFU/ml. Bakteri yang lebih dari 250 koloni dalam 1 pengenceran tidak perlu dihitung, sedangkan bakteri yang kurang dari 25 koloni juga tidak perlu dihitung (Pelczar, 1986).

Isolasi Bakteri

Berdasarkan analisis bakteri yang dilakukan pada 3 media *Blood Agar* dan 3 media *Mac Conkey Agar* ditemukan 3 isolat bakteri, dimana isolat dengan bentuk, warna dan tepian yang berbeda diduga merupakan bakteri dengan jenis yang berbeda.

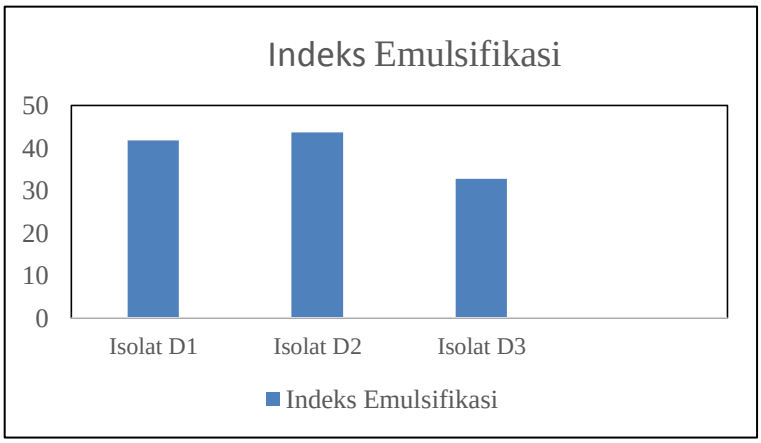
Isolat D1 Isolat D2 Isolat D3

Gambar 1. Hasil Subkultur Bakteri

Uji Bakteri Penghasil Biosurfaktan

Dari hasil uji emulsifikasi pada Gambar 3 diketahui bahwa ketiga bakteri menghasilkan biosurfaktan. Semakin tinggi busa yang dihasilkan, maka semakin tinggi pula emulsi yang dihasilkan oleh bakteri tersebut

dan semakin baik bakteri tersebut dalam mendegradasi limbah minyak sawit, begitupun sebaliknya. Adapun indeks emulsifikasi (IE) dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 2. Grafik Indeks Emulsifikasi

Hasil indeks emulsifikasi dari ketiga sampel bakteri memiliki aktifitas emulsifikasi yang baik karena mempunyai nilai emulsi yang cukup besar yakni isolat D1 41,81%, D2 43,63%. dan D3 32,72 %, Indeks emulsifikasi merupakan salah satu kriteria yang digunakan untuk mengetahui bakteri penghasil biosurfaktan yang potensial. Kemampuan emulsifikasi berperan dalam bioremediasi untuk mengunduksi dispersi senyawa tak larut air keseluruh cairan sehingga memfasilitasi penyerapannya (Satpute *et al.* 2008). Menurut penelitian Purnomohadi (2010), bakteri yang menghasilkan biosurfaktan adalah memiliki indeks emulsifikasi berkisar antara 30% sampai 80%. Sesuai dengan penelitian Damayanti (2019), yang menunjukkan hasil uji emulsifikasi yang dilakukan pada ke-3 isolat yang didapat dari sampel air kolam *contact pond* IPAL industri minyak sawit PT. Sawit Asahan Indah yang memiliki indeks emulsifikasi beriksar 30% - 45% yang berarti berpotensi menghasilkan biosurfaktan

Parameter Kualitas Air

Hasil pengukuran kualitas air yang diperoleh dari kolam *Contact pond* IPAL Industri minyak sawit PT. Eka Dura Indonesia diperoleh nilai pH 7,18, suhu 34 ^{o}C, minyak dan lemak sebesar 36 Mg/L

Berdasarkan hasil pengukuran pH dilapangan menggunakan pH meter diperoleh hasilnya yaitu 7,18. Menurut Charlena *et al.* (2011) pH yang baik dalam pertumbuhan bakteri yaitu berkisar antara 6 hingga 8, pertumbuhan bakteri yang terjadi pada pH yang terlalu rendah atau terlalu tinggi tentunya dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan hasil pengukuran suhu dilapangan menggunakan *Thermometer* diperoleh hasilnya 34 ^{o}C. Menurut Waluyo (2010) bakteri yang berpotensi menghasilkan biosurfaktan adalah bakteri yang mesofilik yaitu bakteri yang hidup antara kisaran suhu 15-55 ^{o}C dengan suhu optimum 25-40 ^{o}C.

Berdasarkan hasil pengukuran kadar minyak dan lemak pada limbah cair kolam *Contact*

Pond diperoleh 36 Mg/L. Menurut wati (2015) bakteri penghasil biosurfaktan ditemukan pada lingkungan yang tercemar oleh minyak. Menurut Wenti (2015) pada lingkungan yang telah tercemar minyak banyak ditemukan jenis bakteri yang mampu mengurai minyak dibandingkan dengan lingkungan yang tidak tercemar minyak. Pada lingkungan tidak tercemar minyak keberadaan mikroorganisme penghasil biosurfaktan kurang dari 0,1%

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan ditemukan 3 jenis isolat bakteri yang mampu menghasilkan biosurfaktan pada kolam *Contact Pond* IPAL Industri minyak sawit.

Saran

Untuk penelitian lebih lanjut perlu dilakukan uji kemampuan bakteri dalam mengurangi pencemaran yang diakibatkan oleh limbah minyak khususnya minyak sawit.

DAFTAR PUSTAKA

Charlena, Z. A. Mas'ud, M. Yani, A. Sjahriza dan J. G. Tarigan. 2011. Biodegradasi Limbah Minyak Berat Menggunakan Isolat Tunggal dan Campuran dengan Penambahan Alkilbenzena Sulfonat Linear. Seminar Nasional 35 Kimia Terapan Indonesia "Potensi Riset Kimia Terapan dalam Mendukung Pembangunan Iptek Berbasis Inovasi". Puspiptek Serpong, 24 Mei 2011.

Cooper, D. G. 1981. Enhanced Production of Surfactin from *Bacillus subtilis* by Continuous Product Removal and Metal Cation Additions. Apllied and Environmental Microbiology. 42(3):404-412.

Desai, J.D., dan I.M. Banat. 1997. Microbial Production of Surfactants and Their Commercial Potential. Microbiol Mol Biol Rev. 61(1): 47-64

Hanum, F., R. Tambun, M. Y. Ritonga, W.W. Kasim. 2015. Aplikasi Elektrokoagulasi Dalam Pengolahan Limbah Cair Pabrik Kelapa Sawit. Jurnal Teknik Kimia USU 4(4):13-17

Hart, T and P, Shears. 1997. Color Atlas of Medical Microbiology. Hipokrates. Jakarta. 81 Hal

Ilori, M. O., Amobi, C. J., Odocha, A.C. (2005). Factors affecting biosurfactant production by oil degrading Aeromonas spp. isolated from a tropical environment. Chemosphere, 61(7):985-992

Kurniati, H. T. 2016. Bakteri Penghasil Biosurfaktan Dari Lingkungan Tercemar Limbah Minyak Dan Potensinya Dalam Mendegradasi Hidrokarbon Aromatik Polisiklik (HAP). Bogor: IPB.

Nugroho, A. 2006. Bioremediasi Hidrokarbon Minyak Bumi. Graha Ilmu. Jakarta. 190 Hal

Pelczar, M J. 2008. Dasar-dasar krobiologi. UI Press. Jakarta. 443 Hal

Purnomohadi, A. 2011. Potensi Bakteri dan Analisis Emulsifikasi Biosurfaktan dari Isolat Bakteri Lokal. Jurnal Sains. 1 (1) : 13-15

Satpute, S. K., Bhawsar, B. D., Dhakephalkar, P. K., Chopade, B. A. 2008. Assessment of different screening methods for selecting biosurfactant producing marine bacteria. Indian J Marine Sci. 37(3):243-250.

Waluyo. L. 2007. Mikrobiologi Umum. UMM Press. Malang. 344 Hal