

JURNAL

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENGHASIL
BIOSURFAKTAN DI AIR LIMBAH KOLAM ANAEROB PADA IPAL
INDUSTRI MINYAK SAWIT**

**OLEH:
NADIA YOLANDA**



**FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN
UNIVERSITAS RIAU
PEKANBARU
2019**

**Isolation And Identification Of Biosurfactant Bacteria In Anaerobic Pond
Wastewater In Palm Oil Industry WWTP**

By

**Nadia Yolanda¹⁾, Muhammad Hasbi²⁾, Budijono²⁾
Faculty of Fisheries and Marine University of Riau.
nadiayolanda5@gmail.com**

Abstract

Palm oil waste can have a negative impact on the environment and can stimulate gene mutations in certain bacteria. The bacteria can produce bio surfactants to reduce the level of oil pollution. This study aims to identify bacteria capable of producing bio surfactants from the anaerobic pond of the palm oil industry WWTP PT. Sawit Asahan Indah, Ujung Batu, Rokan Hulu Regency. The study was conducted from April to May 2019. Samples were diluted and enriched using BHI (Brain Heart Infusion) media for 24 hours. Furthermore, samples were identified in morphological, biochemical and RNA (18SR) methods. Based on the results of the study, three types of bacteria were obtained, namely *Proteus Mirabilis*, *Proteus vulgaris* and *E. coli*. The *Proteus Mirabilis* emulsification index is 46.6%, and *Proteus vulgaris* is 45%. This shows that all bacteria found are able / potentially produce bio surfactants.

Keywords: *palm oil pollution, bio surfactant, Proteus vulgaris, Proteus mirabilis, emulsification index, RNA (18SR) method, Biodegradation.*

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

Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penghasil Biosurfaktan di Air Limbah Kolam Anaerob pada IPAL Industri Minyak Sawit

Oleh

**Nadia Yolanda¹⁾, M, Hasbi²⁾, Budijono²⁾
Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau
nadiayolanda5@gmail.com**

Abstrak

Limbah minyak sawit dapat berdampak negatif terhadap lingkungan, dan dapat menstimulasi mutasi gen pada bakteri tertentu. Bakteri mampu menghasilkan biosurfaktan untuk menurunkan tingkat polusi minyak. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi bakteri yang mampu menghasilkan biosurfaktan dari kolam anaerobik industri minyak sawit IPAL PT. Sawit Asahan indah, Ujung Batu, Kabupaten Rokan Hulu. Penelitian ini dilakukan April sampai Mei 2019. Sampel diencer dan dikayakan dengan menggunakan media BHI (Braint jantung Infusion) selama 24 jam. Selanjutnya, sampel diidentifikasi secara morfologi, biokimia dan metode RNA (16SR). Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh 3 jenis bakteri, yaitu *Proteus Mirabilis*, *Proteus vulgaris* dan *E. coli*. Indeks emulsifikasi *Proteus Mirabilis* sebesar 46,6%, dan *Proteus vulgaris* 45%. Hal ini menunjukkan bahwa semua bakteri yang ditemukan mampu/berpotensi mengasilkan biosurfaktan.

Kata kunci : *pencemaran minyak sawit, Biosurfaktan, Proteus vulgaris, Proteus mirabilis, indeks emulsifikasi, metode RNA (16SR), Biodegradasi.*

¹⁾ Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

²⁾ Dosen Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan produsen minyak kelapa sawit *Crude Palm Oil* (CPO) terbesar di dunia dengan luas perkebunan kelapa sawit pada tahun 2017 yaitu seluas 14.030.60 ha (Badan Pusat Statistik, 2017). Dengan jumlah pabrik pengolahan kelapa sawit di Riau terdapat 246 unit pengolahan kelapa sawit dengan kapasitas produksinya sebesar 7.047.221 ton per tahun (BPMPD Provinsi Riau, 2014).

Peningkatan produksi minyak kelapa sawit akan berdampak pada peningkatan jumlah limbah yang dihasilkan yang jika tidak diolah dengan benar dapat berpotensi menyebabkan pencemaran lingkungan sekitar (Iman dan Rudi, 2008).

Oleh sebab itu dalam PP No 82 tahun 2001 pasal 9 menyebutkan bahwa setiap instansi ataupun pabrik industri yang menghasilkan limbah cair wajib membangun Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL). Oleh sebab itu pabrik industri dapat mengolah limbah cair tersebut untuk selanjutnya dimanfaatkan kembali, namun ada juga di beberapa industri yang tidak memanfaatkannya sehingga sisa limbah tersebut di buang ke perairan tanpa melihat baku mutu sudah sesuai atau belum.

Jika hal ini terjadi tentu saja dapat mencemari perairan karena kandungan zat organiknya tinggi, tingkat keasaman yang rendah, dan mengandung unsur hara makro seperti Nitrogen (N), Posfor (P) dan Kalium (K) (Azwir, 2006). Jika limbah tersebut dibuang ke perairan besar kemungkinan biota yang berada diperairan akan mati dan perairannya menjadi rusak. Hal ini disebabkan karena minyak kelapa sawit mengandung BOD yang tinggi serta molekul minyak yang terdapat pada minyak sawit akan menghalangi proses

fotosintesis dan respirasi pada biota perairan. Dalam jangka panjang akan memicu terjadinya kematian biota perairan.

Biosurfaktan merupakan senyawa lipid dimana biasanya senyawa ini aktif di permukaan yang diproduksi oleh sel hidup, dan memiliki dua bagian, yaitu bagian yang non-polar seperti asam lemak rantai panjang. Bagian lainnya adalah polar yang terdiri dari karbohidrat, asam amino, peptide siklik, fosfat, asam karboksilat atau alkohol (Fakruddin, 2012).

Biasanya surfaktan yang diproduksi saat ini merupakan keturunan dari minyak bumi. Namun pada akhir-akhir ini banyak peneliti yang berminat pada mikrobial surfaktan sebagai substitusi surfaktan kimiawi. Namun untuk menemukan jenis bakteri yang dapat menghasilkan biosurfaktan maka harus dilakukan isolasi terlebih dahulu.

Isolasi bakteri yaitu memisahkan bakteri tersebut dari lingkungannya di alam dan menumbuhkannya sebagai biakan murni dalam medium buatan. Proses isolasi ini menjadi penting dilakukan dalam mempelajari identifikasi mikrobial, uji morfologi, fisiologi, dan serologi serta untuk mengetahui dan mempelajari sifat pertumbuhan dari masing-masing jenis mikroorganisme tersebut, sehingga didapatkan kultur murni yang disebut isolat. Dari isolat inilah didapatkan bakteri yang mampu menghasilkan biosurfaktan (Pelczar dalam Djozhu, 2013).

Penelitian tentang isolasi dan identifikasi bakteri ini belum ada yang melakukannya di limbah cair minyak kelapa sawit, oleh sebab itu perlu dilakukan penelitian tentang isolasi dan identifikasi bakteri penghasil biosurfaktan di air limbah kolam

anaerob pada IPAL industri minyak Sawit Asahan Indah di Ujung Batu, Rokan Hulu, Provinsi Riau.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April – Mei 2019. Dan untuk Pengambilan sampel dilakukan pada lumpur kolam anerob dan dilakukan juga pengukuran kualitas air pada IPAL “Instalasi Pengolahan Air Limbah” industri minyak sawit yang berlokasi di PT. Sawit Asahan Indah, Ujung Batu, Rokan Hulu, Provinsi Riau. Isolasi dilakukan di Laboratorium Bakteriologi UPT Kesehatan Lingkungan Provinsi Riau, sedangkan untuk isolasi DNS dilakukan di Laboratorium Genetika, Jurusan Biologi, fakultas FMIPA, Universitas Riau. Setelah dicetak sampel dikirim ke Jakarta, tepatnya di PT. Genetika Sains untuk dilakukan identifikasi bakteri menggunakan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*) 16S rDNA.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode survei. Stasiun penelitian ditentukan dengan metode purposive sampling, titik pengambilan sampelnya terbagi dari satu titik disetiap kolam yang nantinya sampel yang diambil dikompositkan.

Air sampel yang telah diambil lalu sebanyak 5 ml dimasukan kedalam 45 ml Nacl (0,98%), lalu siapkan media BHI (*Braint Heart Infusion*), selanjutnya ambil 1 ml larutan (sampel+Nacl) yang sudah di campurkan tadi dimasukan kedalam media BHI, lalu masukan kedalam *shaker incubator* selama 24 jam.

Air sampel yang telah dilakukan pengayaan kemudian dilakukan pengenceran dengan menggunakan metode seri pengenceran. Air sampel

diambil sebanyak 1 ml kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 9 ml larutan NaCl (0.9%) sehingga didapat pengenceran 10^{-1} demikian seterusnya sampai pengenceran 10^{-6} .

Sampel yang telah diencerkan diambil pada pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} dan ditumbuhkan pada media *Blood Agar* dan *Mac konkey*, kemudian ambil 1 ml larutan dari setiap pengenceran dan diteteskan ke petri film sesuai dengan jumlah pengenceran, 1 pengenceran 1 kertas petri film, selanjutnya kertas petri film di press dengan menggunakan Aplication petrifilm ditekan selama 10-15 detik agar cairan pada kertas menyebar dan merata, kemudia kertas dimasukan kedalam incubator statis dan di inkubasi selama 24 jam sampai bakteri tumbuh.

Identifikasi isolat dilakukan secara morfologi, biokimia dan PCR (*Polymerase Chain Reaction*) 16S rDNA, secara morfologi yang diamati meliputi morfologi koloni, seperti warna, bentuk dan tepian. Sedangkan karakteristik secara biokimia meliputi: motilitas, katalase, oksidase, sulfide, indol, TSIA dan uji gula lainnya.

Seleksi bakteri penghasil biosurfaktan ditentukan dengan uji emulsifikasi. Aktivitas emulsifikasi diukur dengan menggunakan 4 ml kultur bakteri ditambah dengan 4 ml minyak makan kemudian di fortex selama 5 menit, selanjutnya diamkan selama 24 jam, campuran tersebut diukur kestabilan emulsifikasinya.

Analisis Data

Hasil kajian ini diperoleh data yaitu kelompok bakteri yang menghasilkan biosurfaktan. Kemudian data hasil isolasi dan

kemampuannya dalam mendegradasi minyak disajikan dalam bentuk tabel dan gambar. Selanjutnya data dianalisis secara deskriptif, didukung dengan studi literatur dan hasil penelitian terdahulu.

HASIL DAN PEMBAHASAN

PT. Sawit Asahan Indah mempunyai perkebunan dengan luas area 5.414 ha yang terbagi dalam dua wilayah yaitu kebun barat dan kebun timur. Kedua wilayah ini di pisahkan oleh jalan raya Pasir pengarayandan Ujung batu tepatnya di Desa Surau Gading. Kebun barat terdiri dari 5 afdeling yaitu Alfa, Bravo, Carli, Delta, dan Eko, sedangkan kebun timur terdiri dari 5 afdeling yaitu Fanta, Golf, Hotel, Indian, dan Juliet, dimana setiap afdeling terdiri 650 ha. Dalam hal pengolahan hasil produksi pada saat ini PT. Sawit Asahan Indah sudah dapat memproduksi kelapa sawit menjadi CPO dan Kernel.

Pada proses pengolahan limbah, limbah cair dihasilkan akan dialihkan ke perkebunan dengan menggunakan sistem land aplikasi, sedangkan limbah padat (*Shell, fiber*) akan digunakan sebagai bahan bakar selain itu akan digunakan sebagai penambah unsur hara pada tanah perkebunan (TKKS dan Abu Boiler). Sistem pengolahan limbah dari awal sampai akhir yaitu dimulai dari tahap Sludge pit kemudian diteruskan pada tahap cooling pond setelah itu melalui mixing pond kemudian anaerobic pond dan contact pond serta pada land application. Kapasitas produksi pabrik dalam satu jam yaitu mencapai 48 Ton/jam. Penggunaan air untuk mengolah 1 Ton TBS adalah sebanyak 1 m^3 ($1 \text{ m}^3/\text{Ton TBS}$).

Seleksi Bakteri Penghasil Biosuraktan

Berdasarkan hasil analisis bakteri pada 6 media uji yaitu 3 di media Mac Conkey Agar dan 3 media Blood Agar dimana pada kedua media ini ditemukan 5 isolat bakteri yang terdiri dari 3 jenis bakteri yang berbeda. Berdasarkan hasil identifikasi secara morfologi dan biokimia yang merujuk kepada buku Atlas Berwarna Mikrobiologi Kedokteran Karya Tony Hart dan Paul Shears (1997). Ditemukan pada isolat B4 jenis bakteri *Proteus mirabilis*, isolat B6-b *Proteus vulgaris* dan B6-c *E. coli*.

Berdasarkan hasil isolasi bakteri penghasil biosurfaktan didapatkan jumlah koloni bakteri yaitu sebanyak $2,62 \times 10^9$ CFU/ml.

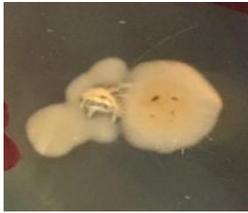
Uji Emulsifikasi

Hasil uji emulsifikasi pada Tabel 4 diketahui bahwasanya semua bakteri yang diteliti menghasilkan biosurfaktan. Yang diketahui berdasarkan tinggi busa setelah di inkubasi selama 2×24 jam yang dihasilkan oleh isolat yang di uji. Pada isolat pertama tinggi busa yang dihasilkan 2,8 cm, sedangkan pada isolat kedua diperoleh tinggi busa sebesar 3,3 cm, isolat ke tiga diperoleh 2,1 cm tinggi busa, dan pada isolat ke empat diperoleh tinggi busa sebanyak 2,7 cm. semakin tinggi busa yang di hasilkan, maka semakin tinggi pula emulsifikasi yang dihasilkan oleh bakteri tersebut dan semakin baik bakterinya dalam mendegradasi limbah minyak di perairan khususnya limbah minyak sawit.

Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri dilakukan secara morfologi, dan biokimia. Secara morfologi dapat dilihat pada Tabel 1

Tabel 1. Morfologi bakteri

Isolat	Bentuk	Warna	Tepian
 B4	Bulat	Putih susu	Bergerigi
 B6-b	Bulat	Putih susu tengahnya bewarna kekuningan	Bergerigi
 B6-c	Bulat	Putih susu	Rata

Ketiga jenis isolat yang didapat selanjutnya akan dilakukan uji biokimia dimana uji biokimia ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik bakteri secara spesifik dalam menentukan jenis bakterinya.

Uji biokimia terdiri dari uji TSIA, sulfide, indol, motilitas, sukrosa, urea, glukosa, lactosa, manitrosa, maltosa, dan sakarosa. Hasil dari uji gula-gula dapat dilihat berdasarkan Tabel 2.

Tabel 2. Identifikasi secara biokimia

No	Uji Biokimia	Sampel		
		B4	B 6-b	B6-c
1	Gram	-	-	-
2	Katalase	+	+	+

3	Oksidasi	-	-	+
4	TSIA	m/m	m/m	k/k
5	Sulfide	-	+	-
6	Indol	-	+	+
7	Motilitas	+	+	+
8	Sukrosa	+	+	-
9	Urea	+	+	+
10	Glukosa	+	+	+
11	Lactose	-	-	+
12	Manitrosa	+	+	+
13	Maltose	+	-	+
14	<i>Simmon citrate</i>	+	-	-

Parameter Lingkungan

Parameter yang diukur dalam penelitian ini adalah suhu, pH tanah dan minyak lemak yang bertujuan

untuk mengetahui keadaan lingkungan ketika penelitian dilakukan. Hasil pengukuran parameter lingkungan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Pengukuran Kualitas Air

No	Parameter	Satuan	Keterangan
1	Suhu	°C	35
2	pH	-	6
3	Minyak dan Lemak	µg/L	174

Hasil pengukuran suhu yang dilakukan pada air kolam limbah anaerob di IPAL industri minyak sawit PT. Sawit Asahan Indah yaitu 35°C. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri yang terdapat di kolam anaerob merupakan jenis bakteri mesofilik, yaitu bakteri yang hidup di suhu kamar.

Sedangkan hasil pengukuran pH yang didapatkan pada kolam anaerob IPAL industri minyak sawit yaitu 5. Hal ini menunjukkan bahwa air kolam bersifat asam tetapi masih mendukung dalam pertumbuhan bakteri. Menurut Charlena et al. (2011) pH yang baik dalam pertumbuhan bakteri yaitu berkisar

antara 6 sampai dengan 8, pertumbuhan bakteri yang terjadi pada pH rendah atau dalam keadaan asam tentunya dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Pengukuran minyak dan lemak dari air limbah kolam anaerob pada IPAL industri minyak sawit diperoleh hasil 174 mg/l, berdasarkan baku mutu Kepmen LH No. 51 tahun 2004 telah menetapkan bahwasanya konsentrasi maksimal yang diperoleh lebih kecil dari effluent air limbah industri yaitu 1 mg/L. Adanya paparan minyak yang selalu masuk dan mengendap kedalam sedimen maka mikroorganisme akan mengalami perubahan genetik dan

mampu beradaptasi di kondisi tersebut sehingga mikroorganisme mampu mendegradasi minyak

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan 2 jenis isolat bakteri pada air kolam anaerob yang berpotensi mampu menghasilkan biosurfaktan. Dari hasil identifikasi bakteri yang telah dilakukan menunjukkan bahwa isolat 1 B4 merupakan spesies *Proteus mirabilis* dimana spesies ini telah diuji dengan PCR untuk melihat rangkaian DNANYa dengan index emulsifikasinya sebesar 46,6%, sedangkan untuk isolat kedua B6-b merupakan spesies *Proteus vulgaris* dengan index emulsifikasinya sebesar 45%, dan isolat ketiga B6-c merupakan spesies *E. coli* dengan index emulsifikasinya paling sedikit yaitu 10%.

Pengukuran kualitas perairan di kolam anaerob pada IPAL industri minyak sawit menurut Kepmen LH No. 51 tahun 2004 seperti pengukurab suhu, pH, minyak dan lemak berada dibawah baku mutu sehingga baik untuk pertumbuhan bakteri.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mendapatkan bakteri yang lebih banyak dengan spesies berbeda yang berpotensi mampu menghasilkan biosurfaktan. Serta isolat bakteri yang berpotensi menghasilkan biosurfaktan perlu dilakukan penelitian selanjutnya untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mengurangi polutan akibat minyak khususnya minyak sawit dengan skala laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

- Azwir, 2006. Analisa Pencemaran Air Sungai Tapung Kiri Oleh Limbah Industri Kelapa Sawit PT. PEPUTRA MASTERINDO di Kabupaten Kampar. Thesis. Pasca sarjana UNDIP. Semarang
- Badan Pusat Statistik. 2017. Luas Tanaman Perkebunan Menurut Propinsi dan Jenis Tanaman, Indonesia, 2014-2017.
- Djozhu, J, 2013. Isolasi Mikroorganisme [Online], Tersedia, jokodjozhuu15.blogspot.com/2013/05/isolasi-mikroorganisme.html?m=1. Diakses pada 09 Januari 2019.
- Fakruddin, Md, (2012, Juni). Biosurfactant: Production and Aplication. Journal of Petroleum & Environmental Biotechnology, 124(3). doi:10.4172/2157-7463.1000124.
- Hart, T dan P. Shears, 1997. Mikrobiologi Kedokteran Atlas Bewarna. Hipokrates. Pp 73-111.
- Iman, & Rudi. (2008). Budidaya Pemanfaatan Hasil Limbah Analisis Usaha dan Pemasaran Kelapa Sawit. jakarta: Penenbar Sadaya.

