

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI LIPOLITIK DARI LIMBAH CAIR KELAPA SAWIT (*Elaeis quineensis* Jacq.)

Khairani¹, Kartika Manalu²

Universitas Islam Negeri Sumatera Utara^{1,2}

Khairaniaja0803@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri lipolitik dalam mendegradasi lipid dengan memperoleh isolat-isolat bakteri lipolitik pada limbah cair industri kelapa sawit. Metode penelitian yang digunakan adalah metode deskripsi dengan teknik isolasi bakteri menggunakan media NA (*Nutrient Agar*) dan media selektif agar lipolitik, dengan menguji kemampuan aktivitas indeks lipolitik. Hasil penelitian menunjukkan terdapat 10 isolat bakteri lipolitik dengan karakteristik morfologi dan biokimia menunjukkan tiga genus bakteri yaitu, genus *Bacillus*, *Pseudomonas* dan *Klebsiella*. Data analisa memperlihatkan bahwa 10 isolat bakteri lipolitik memiliki potensi dalam mendegradasi lipid, nilai indeks aktivitas lipolitik isolat terbesar pada isolat BL₁ sebesar 0,48 mm dan indeks lipolitik terendah dengan isolat BL₉ sebesar 0,16 mm. Kesimpulan, dengan melakukan isolasi dan mengidentifikasi bakteri lipolitik pada limbah cair kelapa sawit merupakan salah satu cara untuk mengurangi pencemaran lingkungan yang merusak ekosistem yang ada dilingkungan.

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

ABSTRACT

*This study aims to determine the ability of lipolytic bacteria to degrade lipids by obtaining isolates of lipolytic bacteria in palm oil industrial wastewater. By testing the ability of the lipolytic index, the research method used is a description method with bacterial isolation techniques using NA media (Nutrient Agar) and selective media for lipolytic agar. The results showed that there were 10 isolates of lipolytic bacteria with morphological and biochemical characteristics indicating three bacterial genera, namely, the genera *Bacillus*, *Pseudomonas*, and *Klebsiella*. Data analysis showed that 10 isolates of lipolytic bacteria had the potential to degrade lipids; the highest lipolytic activity index value of the isolates was found in isolate BL₁ at 0.48 mm, and the lowest lipolytic index was found in isolate BL₉ at 0.16 mm. In conclusion, isolating and identifying lipolytic bacteria in palm oil wastewater is one way to reduce environmental pollution that damages existing ecosystems in the environment.*

Keywords: Lipolytic Bacteria, Isolation, Palm Oil Effluent, Lipid

PENDAHULUAN

Indonesia ialah negara penghasil kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) yang mempunyai potensi dalam peningkatan industri kelapa sawit. Kelapa sawit adalah komoditas utama perkebunan yang ada di Indonesia, karena semakin luasnya areal perkebunan sawit maka produksi minyak sawit juga akan meningkat. Adanya peningkatan industri kelapa sawit yang diiringi pembangunan pabrik akan berdampak buruk di lingkungan (Chairunnisa, 2019). Limbah industri ada yang bersifat padat dan cair. Limbah cair industri yang mengandung minyak kelapa sawit banyak mengandung senyawa fosfolipid, sehingga mengakibatkan terjadinya pencemaran lingkungan. Limbah cair industri banyak mengandung mikroorganisme serta memiliki kemampuan untuk menghidrolisis lipid dan minyak (Amanda et al., 2019).

Upaya yang dilakukan sebelum limbah cair industri minyak kelapa sawit dibuang ke lingkungan yaitu dengan metode pengolahan. Pengolahan limbah cair yang dilakukan yaitu menggunakan metode biologi. Limbah yang mengandung senyawa organik bisa didegradasi oleh mikroba dan dapat dikendalikan secara biologis. Metode isolasi menggunakan media spesifik adalah salah satu metodenya (Kawuri & Darmayasa, 2022). Salah satu mikroba yang dapat mengurai senyawa fosfolipid pada limbah cair industri kelapa sawit adalah bakteri lipolitik.

Bakteri lipolitik merupakan jenis mikroorganisme yang mengandung enzim lipase yang memiliki kemampuan untuk memecah lemak atau minyak. Dengan memecah ikatan ester dan triasilgliserol menjadi asam lemak dan gliserol yang larut dalam air, sehingga enzim lipase pada bakteri lipolitik dapat membantu sebagai pengurai bahan organik berupa minyak (Chairunnisa, 2019). Kemampuan bakteri untuk menghasilkan enzim lipase berkaitan dengan aktivitas bakteri lipolitik dalam mendegradasi lemak dalam air limbah. Lipase (*Triasilgliserol lipase*) merupakan enzim yang bisa membebaskan gliserol dan asam lemak serta menghidrolisis trigliserol (Melati, 2020).

Semakin tinggi keanekaragaman bakteri baik secara biologis, morfologis, dan fisiologi maka semakin bagus dalam mengurangi tingkat pencemaran sesuai dengan kemampuannya. Salah satu peran bakteri ialah dapat memanfaatkan bahan-bahan yang ada di habitatnya sebagai sumber nutrisi untuk sistem metabolismenya, salah satunya adalah polutan yang mencemari lingkungan (Jekti, 2018). Di lingkungan yang tidak tercemar minyak, sekitar 1 % mikroorganisme menggunakan hidrokarbon sebagai sumber karbonnya, namun di lingkungan yang tercemar minyak komunitas mikroba akan meningkat menjadi 100 % di lingkungan tersebut (Jekti, 2018).

Penelitian tentang bakteri lipolitik yang mampu mendegradasi lipid atau lemak di lingkungan yang tercemar limbah cair industri kelapa sawit telah dilakukan sebelumnya oleh Chairunnisa, (2019) yang menemukan bahwa bakteri lipolitik mampu mendegradasi lipid atau lemak di lingkungan tercemar dengan

menemukan 8 isolat yang memiliki potensi yang berbeda. Menurut penelitian (Kawuri & Darmayasa., 2022) menemukan 3 jenis bakteri lipolitik yang mampu mendegradasi lipid yaitu genus *Bacillus*, *Pseudomonas*, dan *Klebsiella sp.*

Desa Simangalam merupakan desa yang terletak di Kecamatan Kualuh Selatan Kabupaten Labuhanbatu Utara yang memiliki aliran sungai kecil di desa tersebut. Air sungainya bercampur dengan limbah pabrik kelapa sawit sehingga menyebabkan sungai mengalami pencemaran dengan memiliki warna hitam dan berminyak. Jika kandungan senyawa organik limbah cair tinggi dalam sungai yang tercemar akan menyebabkan rusaknya ekosistem yang ada di sungai Desa Simangalam. Limbah cair tersebut mengandung fosfolipid yang tinggi, sehingga untuk mengetahui kemampuan bakteri lipolitik dalam mendegradasi lipid di limbah cair perlu dilakukan isolasi pada limbah untuk mengurangi tingkat pencemaran. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah limbah cair kelapa sawit mengandung bakteri lipolitik dan apakah bakteri tersebut mampu mendegradasi lipid atau lemak. Penelitian ini dapat dijadikan sebagai referensi untuk para peneliti untuk mengetahui lebih jauh mengenai bakteri lipolitik.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di UPT. Laboratorium Mikrobiologi FMIPA USU, Medan, Jalan Bioteknologi No. 1 Unit 3, FMIPA, Padang Bulan, Medan Baru. Penelitian dilakukan pada bulan November-Desember 2022. Untuk mengetahui keberadaan bakteri dan karakteristik isolat bakteri sebagai pendegradasi lipid dalam limbah cair kelapa sawit, penelitian ini dilakukan dengan metode deskriptif yaitu mengambil sampel dari aliran limbah menuju sungai kemudian diisolasi.

Alat-alat digunakan adalah Bunsen, autoklaf, cawan petri, laminar air flow, neraca analitik, hot plate, incubator, kertas cakram (*paperdisk*), jarum inokulasi (*ose*), gelas ukur, tabung reaksi, pipe tetes Erlenmeyer, mikropipet, mikroskop, pinset, batang pengaduk, rak tabung reaksi, penjepit tabung, lemari pendingin, cover glass, object glass, kertas label, dan kamera. Bahan-bahan yang diperlukan yaitu sampel limbah cair kelapa sawit diambil dari tempat pembuangan terakhir limbah kelapa sawit menuju sungai tempat limbah tersebut dibuang, media NA (*Nutrient Agar*) aquades steril, alcohol 96%, aluminium foil, minyak imersi, safranin, lugol, gentian violet, Hidrogen peroksida (H_2O_2), minyak zaitun, tween-80, NaCl, dan racikan media selektif lipolitik.

Pengambilan Sampel

Sampel diambil dari 3 titik limbah cair industri kelapa sawit sebelum menuju sungai tempat limbah akan dibuang. Pengambilan sampel pada saluran kolam dengan teknik *purposive*. Sampel diambil menggunakan botol yang steril dengan cara menenggelamkan botol tersebut kedalam sungai yang tercemar.

Sampel yang telah diambil kemudian ditutup kembali dan diberi label kemudian disimpan di dalam *coolbox*.

Pembuatan Media

Dilarutkan media NA (*Nutrient Agar*) sebanyak 5 gram, kemudian ditambahkan aquades 100 ml dilarutkan kedalam beaker glass, lalu dipanaskan diatas hot plate kemudian diaduk hingga homogen dan mendidih. Setelah itu, media disterilkan selama 15 menit dengan suhu 121°C dalam autoklaf. Kemudian media akan dituang ke dalam cawan petri secara steril, kemudian dibiarkan hingga media memadat pada suhu ruangan.

Isolasi Bakteri Lipolitik

Sampel limbah cair kelapa sawit diencerkan 10 ml, lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi 90 ml (NaCl) yang dihomogenkan dengan vortex sehingga terbentuk pengenceran bertingkat dari 10^{-1} sampai 10^{-7} . Kemudian diambil 1 ml suspensi pada seri pengenceran terakhir, lalu ditambahkan media NA (*Nutrient Agar*), lemak gliserol dan tween-80 dengan metode cawan tuang (*power plate*) dan diinkubasi selama 2 x 24 jam pada suhu 37°.

Pemurnian isolat bakteri dilakukan dengan metode cawan gores (*streak plate*) yang menunjukkan morfologi dan warna koloni yang berbeda-beda. Pemurnian ini dilakukan secara berulang hingga diperoleh kultur murni untuk dipisahkan. Isolat murni akan diambil sebanyak 2-3 ose kemudian dipindahkan ke media NA (*Nutrient Agar*) kemudian diinkubasi selama 2 x 48 jam dengan suhu 37°C.

Karakterisasi dan Morfologi Isolat Bakteri

Karakteristik dan morfologi bakteri yang tumbuh secara makroskopis seperti bentuk koloni, warna koloni, elevasi, tepi koloni dan permukaan koloni akan diamati pada isolat baktei yang ditumbuhkan pada media NA (*Nutrient Agar*). Pengamatan secara mikroskopis dilakukan dengan melakukan pewarnaan gram. Uji biokimia bakteri dilakukan untuk mengidentifikasi isolat bakteri yang di dapat, kemudian dilakukan pengujian seperti: uji SIM (*Sulfid Indol Motility*), uji katalase, uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*), dan uji *Simmon sitrat*.

Uji SIM (*Sulfid Indol Motility*)

Bakteri diambil 1 ose isolat bakteri kemudian diinokulasikan dengan cara ditusukkan pada media secara tegak, lalu diinkubasi pada suhu 37° C selama 48 jam. Apabila pertumbuhan bakteri menyebar disekitar bekas tusukan jarum ose menandakan hasil positif, sedangkan jika hanya berupa garis di sepanjang tusukan saja akan menandakan hasil negatif.

Uji Katalase

Isolat diambil 1 ose isolat bakteri murni bakteri menggunakan jarum ose steril, lalu diletakkan pada permukaan object glass steril, lalu ditetesi reagen Hidrogen peroksida (H₂O₂) 3% 1-2 tetes. Reaksi positif akan ditandai dengan terdapatnya gelembung-gelembung oksigen.

Uji SC (*Simmon Sitrat*)

Satu koloni biakan bakteri diambil satu jarum ose kemudian ditanam pada media *Simmon sitrat* dengan cara menggoreskan jarum ose secara zig-zag. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37° C . Reaksi dinyatakan positif bila timbul warna biru terang.

Uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)

Biakan bakteri diambil dengan menggoreskan biakan dengan jarum ose steril pada media uji TSIA dengan cara menusuk ose sampai sepertiga dasar tabung. Kemudian diangkat dan digores secara zig-zag pada bagian miring permukaannya setelah itu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37° C.

Pewarnaan Gram

Tujuan pewarnaan gram adalah untuk mengidentifikasi isolat bakteri yang diisolasi. Dicuci gelas objek dengan alkohol 70 % kemudian di fiksasi. Letakkan satu tetes aquadest pada gelas objek. Kemudian di suspensikan satu ose biakan koloni bakteri, ratakan dan fiksasi diatas nyala api. Tambahkan satu tetes kristal gentian violet selama 30 detik. Kemudian dibilas dengan aquades, lalu ditambahkan satu tetes larutan lugol diamkan selama 30 detik, kemudian bilas dengan aquades. Cuci gelas objek dengan alkohol 96 % selama 20 detik, lalu bilas dengan air. Kemudian tetes larutan safranin 0,25% selama 30 detik, cuci larutan safranin dengan aquadest steril, lalu dikeringkan. Setelah kering lalu tetesi minyak imersi. Setelah selesai, dapat dilihat menggunakan mikroskop perbesaran 100x, amati warna dan bentuk dari bakteri. Warna ungu menunjukkan bakteri gram positif, dan warna pink menunjukkan bakteri gram negatif.

Pengukuran Aktivitas Indeks Lipolitik

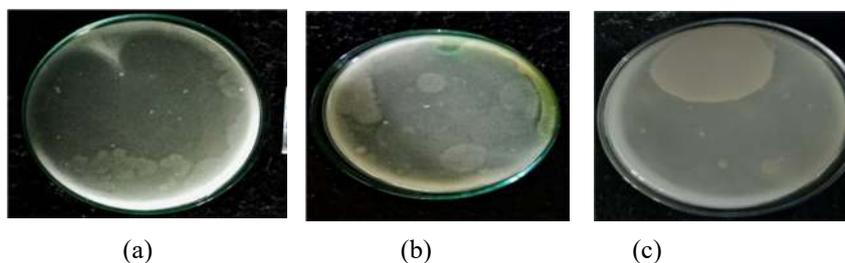
Bakteri hasil pemurnian diambil 1-2 ose dan dibiakkan selama 24 jam pada 5 ml media cair dengan komposisi pepton 2 %, Tween-80 1 %, dan NaCl 1 % dan minyak zaitun. Dichelupkan kertas cakram berdiameter ± 5 mm ke media cair selama 10-15 menit. Kemudian diletakkan kertas cakram diatas media selektif lipolitik dengan komposisi NaCl 0,5 g, CaCl 0,1 g, Pepton 10 g, agar 20 g, Tween-80 2,5 %, dan minyak zaitun 5 %, lalu diinkubasi selama 7 x 24 jam dan hari ke-7 dihitung diameter zona bening dan diameter koloninya untuk mengukur aktivitas indeks bakteri lipolitik.

Untuk mengetahui potensi masing-masing isolat bakteri dalam mendegradasi lipid dan lemak, dilakukan pengukuran indeks aktivitas bakteri lipolitik. Koloni bakteri yang membentuk zona bening, kemudian setiap isolat bakteri yang diperoleh dihitung indeks bakteri lipolitiknya. Diasumsikan bahwa isolat dengan nilai indeks lipolitik yang tinggi memiliki tingkat aktivitas lipolitik yang tinggi. Indeks lipolitik isolat dapat diukur dengan rumus:

$$\text{Indeks lipolitik} = \frac{\text{Diameter zona bening}}{\text{Diameter Koloni}}$$

HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa 10 isolat bakteri yang mampu berkembang dan tumbuh pada media uji yang diperoleh dari limbah cair kelapa sawit yang diambil dari 3 titik sampel. Hasil isolasi limbah cair kelapa sawit adalah sebagai berikut:



Gambar 1. (a) Sampel 1 limbah cair kelapa sawit, (b) Sampel 2 limbah cair kelapa sawit, (c) Sampel 3 limbah cair kelapa sawit

Dari gambar 1 dapat dilihat pada sampel 1 koloni bakteri yang tumbuh ada 3 koloni bakteri. Pada sampel ke 2 terdapat 4 koloni bakteri. Kemudian sampel limbah 3 terdapat 3 koloni bakteri yang tumbuh pada media.

Karakterisasi dan Morfologi

Bakteri yang dominan yang berhasil diisolasi kemudian diamati secara makroskopis dan mikroskopis. Hasil pengamatan morfologi secara makroskopis dari 10 isolat bakteri yang di beri kode BL (Bakteri Lipolitik).

Tabel 1. Karakterisasi Morfologi Isolat Bakteri

Kode Isolat	Bentuk	Margin	Elevasi	Warna
BL1	<i>Circuler</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>	Putih susu
BL2	<i>Circuler</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	Putih Susu
BL3	<i>Circuler</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>	Putih susu
BL4	<i>Circuler</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	Putih susu
BL5	<i>Irregular</i>	<i>Undule</i>	<i>Convex</i>	Hijau
BL6	<i>Circuler</i>	<i>Undule</i>	<i>Convex</i>	Putih Susu
BL7	<i>Circuler</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>	Putih Susu
BL8	<i>Circuler</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	Putih Kekuningan
BL9	<i>Circuler</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	Putih susu
BL10	<i>Circuler</i>	<i>Entire</i>	<i>Flat</i>	Putih Susu

Data Tabel 1 menunjukkan bahwa morfologi isolat bakteri terlihat adanya perbedaan dari bentuk, permukaan, tepi bakteri dan warna dari isolat tersebut. Isolat dengan kode BL₁, BL₃, BL₇, dan BL₁₀ memiliki bentuk bulat (*Circular*), mempunyai tepian rata (*Entire*), berwarna putih susu dengan elevasi datar (*Flat*). Isolat dengan kode BL₂, BL₄, BL₈ dan BL₉ memiliki bentuk bulat (*Circular*), mempunyai tepian rata (*Entire*), berwarna putih susu dengan elevasi cembung (*Convex*). Isolat kode BL-5 memiliki bentuk (*Irregular*), memiliki tepi bergelombang (*Undulate*), berwarna hijau serta mempunyai elevasi cembung (*Convex*). Isolat kode BL-6 berbentuk bulat (*Circular*), mempunyai tepian rata (*Entire*), berwarna putih susu dengan elevasi cembung (*Convex*).

Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram bertujuan untuk menentukan isolat yang telah tunggal serta koloni tersebut termasuk gram negatif maupun gram positif. Sepuluh isolat bakteri yang ditemukan pada limbah cair kelapa sawit, kemudian dilakukan uji pewarnaan gram. Hasil pengamatan isolat bakteri secara mikroskopik dapat dilihat pada tabel.

Tabel 2. Hasil Pewarnaan Gram

Kode Isolat	Bentuk Sel	Sifat Gram
BL1	<i>Basil</i>	Negatif
BL2	<i>Monobasil</i>	Positif
BL3	<i>Monobasil</i>	Positif
BL4	<i>Streptobasil</i>	Negatif
BL5	<i>Monobasil</i>	Positif
BL6	<i>Monococcus</i>	Positif
BL7	<i>Streptobasil</i>	Positif
BL8	<i>Streptobasil</i>	Positif
BL9	<i>Streptobasil</i>	Positif
BL10	<i>Streptobasil</i>	Negatif

Data tabel 2 dari 10 isolat diketahui terdapat 70 % isolat yang bersifat gram positif dengan kode isolat (BL₂, BL₃, BL₅, BL₆, BL₇, BL₈ dan BL₉) dan terdapat 30% isolat yang bersifat gram negatif dengan kode isolate (BL₁, BL₄ dan BL₁₀). Pada tabel 1 dan tabel 3 menunjukkan 10 koloni bakteri yang diidentifikasi secara morfologi (makroskopis dan mikroskopis) serta uji biokimia dan dibandingkan dengan buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Seventh Edition* adalah yang diduga bakteri dari genus *Pseudomonas*, *Bacillus*, dan genus *Klebsiella sp.*

Uji Aktivitas Biokimia

Uji biokimia bertujuan untuk mengetahui sifat fisiologis isolat bakteri. Karena setiap isolat bakteri memiliki aktivitas uji biokimia yang berbeda-beda, maka perlu dilakukan uji biokimia untuk menentukan genus bakteri. Selanjutnya dilakukan uji biokimia terhadap 10 isolat yang berasal dari hasil isolasi tersebut.

Tabel dibawah ini menampilkan hasil uji biokimia yang diamati pada sepuluh isolat yang diperoleh.

Tabel 3. Hasil Uji Biokimia

Uji Biokimia	Kode Isolat									
	BL ₁	BL ₂	BL ₃	BL ₄	BL ₅	BL ₆	BL ₇	BL ₈	BL ₉	BL ₁₀
Katalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Motilitas	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-
Sitrat	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-
TSIA	K/A	K/A	K/A	A/A	A/A	K/K	K/A	A/A	A/A	A/A
H ₂ S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gas	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-

Hasil tabel 3 menunjukkan terdapat 10 isolat memiliki hasil uji biokimia yang berbeda-beda. Pada uji TSIA, terdapat 4 isolat mampu memfermentasikan sebagian karbohidrat yaitu isolat BL₁, BL₂, BL₃, dan BL₇. Uji sitrat yang dilakukan diketahui 4 isolat yang menunjukkan reaksi positif. Terdapat 6 isolat yang menunjukkan reaksi positif pada uji motilitas. Kemudian uji katalase terdapat 9 isolat yang menunjukkan reaksi positif.

Pengukuran Aktivitas Indeks Lipolitik

Ditemukan 10 isolat yang tumbuh pada media selektif lipolitik yang ditandai terbentuknya zona bening disekitar koloni, kemudian dilakukan pengukuran aktivitas indeks lipolitik. Adapaun hasil indeks lipolitik dari 10 isolat tersebut dapat dilihat pada tabel.

Tabel 4. Hasil Pengukuran Indeks Lipolitik

Kode Isolat	Karakteristik Makroskopis Isolat		
	Diameter Koloni (mm)	Diameter Zona Bening (mm)	Indeks Lipolitik (mm)
BL1	18,1	8,6	0,48
BL2	19,4	8,8	0,45
BL3	45,1	8,9	0,20
BL4	40,4	7,1	0,18
BL5	62,7	8,7	0,14
BL6	23,8	8,5	0,36
BL7	44,3	8,9	0,20
BL8	40,5	9,4	0,23
BL9	50,8	8,2	0,16
BL10	20,2	70,2	0,36

Data Tabel 4 dengan 10 isolat yang didapat, isolat dengan kode BL-1 memiliki indeks lipolitik paling besar. Hal ini terlihat pada potensi kemampuan isolat dengan kode BL-1 lebih besar dalam mendegradasi minyak dibandingkan dengan isolat lainnya dengan indeks lipolitik sebesar 0,48 mm.



Gambar 2. Zona Bening pada Media Selektif Lipolitik pada Isolat BL₁

PEMBAHASAN

Hasil isolasi bakteri lipolitik dari limbah cair kelapa sawit (*Elaeis quineensis*. Jacq.) terdapat 10 isolat dari 3 sampel yang digunakan, lalu ditumbuhkan dengan media NA, dan media selektif agar lipolitik. Tween-80 adalah komponen utama media lipolitik selektif karena berfungsi sebagai uji kemampuan lipolitik untuk mendegradasi minyak (lipid) dan merupakan nutrisi utama yang dibutuhkan bakteri lipolitik. Jika bakteri lipolitik dapat mendegradasi tween dalam media lipolitik, minyak akan tampak terdegradasi. Adanya penambahan tween-80 pada media bertujuan untuk mengefektifkan kerja dari enzim lipase yang dihasilkan oleh bakteri (Kawuri & Darmayasa, 2022).

Data pada Tabel 1, menunjukkan morfologi isolat bakteri terdapat perbedaan dari bentuk, permukaan, tepi bakteri dan warna dari isolat tersebut. Isolat dengan kode BL₁, BL₃, BL₇, dan BL₁₀ memiliki bentuk *Circular* (bulat), mempunyai tepian rata (*Entire*), berwarna putih susu dengan elevasi *Flat* (datar). Isolat dengan kode BL₂, BL₄, BL₈ dan BL₉ memiliki bentuk *Circular* (bulat), mempunyai tepian rata (*Entire*), berwarna putih susu dengan elevasi cembung (*Convex*). Isolat dengan kode BL₅ berbentuk tidak beraturan (*Irregular*), memiliki tepian bergelombang (*Undulate*), berwarna hijau dengan elevasi *Convex* (cembung). Isolat kode BL₆ berbentuk bulat (*Circular*), mempunyai tepian rata (*Entire*), berwarna putih susu dengan elevasi cembung *Convex*.

Hasil pada tabel 2 terkait morfologi bakteri secara mikroskopik menunjukkan 70 % isolat yang bersifat gram positif dan terdapat 30% isolat yang bersifat gram negatif. Pewarnaan gram bertujuan untuk mengamati morfologi sel bakteri. Pada hasil pengamatan bakteri dikatakan bersifat gram positif ditandai dengan terbentuknya warna ungu pada sel bakteri. Bakteri dikatakan bersifat negatif dilihat dengan terbentuknya warna merah pada sel bakteri (Rahmawati et al., 2021).

Tabel 3 menunjukkan hasil uji biokimia yang dilakukan pada media Triple Sugar Iron Agar (TSIA) yang meliputi fermentasi karbohidrat. Hasil uji TSIA umumnya dilihat dari lereng media. Bakteri hanya dapat memfermentasi sebagian karbohidrat jika hasil uji menunjukkan lereng kuning dan dasar merah (K/A). Hasil uji menunjukkan (A/A) berarti bakteri dapat memfermentasi semua jenis karbohidrat sedangkan hasil (K/K) menunjukkan bakteri tidak dapat memfermentasi semua jenis karbohidrat. Sedangkan untuk uji fermentasi karbohidrat, hasil positif ditunjukkan dengan penyesuaian warna medium dari

ungu menjadi kuning hingga jernih, hasil negatif dilihat dari tidak adanya perubahan warna medium setelah 24 jam pasca inokulasi (Kosasi et al., 2019).

Hasil uji TSIA dari 10 diketahui terdapat 4 isolat bakteri yang dapat memfementasikan sebagian karbohidrat dengan menunjukkan hasil uji (K/A) (lereng berwarna kuning dengan dasar berwarna merah, dengan kode isolat yaitu: BL₁, BL₂, BL₃ dan BL₇. Dan terdapat 5 isolat bakteri yang dapat memfementasikan semua jenis karbohidrat dengan menunjukkan hasil uji (A/A) dengan kode isolat yaitu : BL₄, BL₅, BL₈, BL₉, BL₁₀. Isolasi bakteri dengan kode isolat BL₄ memiliki kemampuan dalam memfementasikan gula untuk menghasilkan asam atau gas (Kosasi et al., 2019). Kemudian terdapat 1 isolat bakteri yang tidak mampu memfementasikan semua jenis karbohidrat dengan kode isolat yaitu: BL₆. Hasil uji TSIA bisa terjadi karena dari berbagai jenis bakteri mempunyai kemampuan yang berbeda dalam penggunaan gula, sebagian melakukan fermentasi dan sebagian tidak.

Uji biokimia dengan uji Sitrat (*Simmon's Citrate*) bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri dapat memanfaatkan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna media dari hijau menjadi biru. Penggunaan sitrat oleh bakteri menyebabkan hilangnya sitrat dari biakan, dan mengalami peningkatan pH serta perubahan warna media dari hijau menjadi biru. Ini adalah penyebab perubahan warna pada media (Kosasi et al., 2019). Hasil dari 10 isolat yang didapat, diketahui terdapat 4 isolat yang bernilai positif yaitu yang mampu menggunakan sitrat dengan mengubah media dari hijau menjadi biru dengan kode isolat BL₁, BL₆, BL₇, dan BL₈. Serta 6 isolat yang bernilai negatif yang tidak mampu menggunakan sitrat dengan kode isolat BL₂, BL₃, BL₄, BL₅, BL₉ dan BL₁₀.

Uji SIM (*Sulfid Indol Motility*) bertujuan untuk melihat pergerakan bakteri di media yang ditusuk, dengan melihat pergerakan dari bakteri yang disebabkan adanya gerakan pasif ataupun aktif. Teknik pengujian motilitas ini menggunakan media *Nutrient Agar* (NA). Menurut (Kosasi et al., 2019) mengatakan bahwa hasil negatif pada uji motilitas terjadi pada pertumbuhan bakteri tidak menyebar serta tumbuh lurus sesuai area tusukan dan hasil positif akan menunjukkan pertumbuhan bakteri menyebar di sekitar penusukan sampai permukaan media. Hasil dari 10 isolat yang didapat, diketahui terdapat 6 isolat yang bernilai positif dengan bersifat motil yang di tandai adanya pertumbuhan menyebar di sekitar tusukan ose dengan kode isolat BL₁, BL₂, BL₃, BL₅, BL₆, dan BL₇. Terdapat 4 isolat yang bernilai negatif dengan kode isolat BL₄, BL₈, BL₉, dan BL₁₀.

Uji katalase bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri dapat menghasilkan enzim untuk memecah atau mendegradasi hidrogen peroksida (H₂O₂). Dengan mengubah hidrogen peroksida (H₂O₂) menjadi oksigen dan air, organisme akan menghasilkan enzim katalase yang ditunjukkan dengan adanya gelembung-gelembung oksigen pada hasil positif, (Kosasi et al., 2019). Menurut (Nurzhulian et al., 2021) bahwa hidrogen peroksida memiliki sifat toksik sehingga

cepat merusak komponen dari sel bakteri. Pada 10 isolat yang didapat terdapat 9 isolat yang bernilai positif yang menghasilkan enzim katalase. Hal ini menunjukkan sampel mampu memecah H_2O_2 yang merupakan hasil aerobic bakteri yang hasil respirasi tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri karena memiliki sifat toksik pada bakteri itu sendiri, sehingga komponen ini dipecah oleh bakteri supaya tidak bersifat toksik (Rahmawati et al., 2021). Kemudian terdapat 1 isolat yang bernilai negatif yang tidak dapat menghasilkan enzim katalase dengan kode isolat BL₁₀.

Data tabel 4 terkait aktivitas indeks lipolitik dimulai dari kode BL-1 hingga BL-10. Diketahui 10 isolat bersifat positif mengandung enzim lipase, yang dibuktikan dengan adanya zona bening di sekitar koloni bakteri yang tumbuh. Bakteri lipolitik akan menghidrolisis lipid yang terkandung dalam media NA + lemak yang dimodifikasi, hingga terbentuk asam lemak dan gliserol. Media NA akan ditambahkan lemak berupa minyak zaitun yang berfungsi untuk substrat yang akan dihidrolisis oleh bakteri lipolitik. Isolat akan bersifat lipolitik jika menghasilkan zona bening disekitar koloni lipolitik (Astuti, 2017).

Kandungan Enzim lipase adalah faktor penting bagi bakteri untuk mendegradasi minyak dalam limbah cair kelapa sawit. Enzim lipase dapat dimanfaatkan secara langsung jika substratnya mengandung lemak dan tergantung dari berbagai faktor. Enzim akan disekresikan dan menghidrolisis trigliserida menjadi gliserol dengan tiga asam lemak rantai panjang. Dimana media selektif tersebut mengandung emulsi minyak zaitun. Bakteri akan menghasilkan enzim lipase dan menghidrolisis minyak zaitun sehingga menghasilkan zona bening disekitar pertumbuhan koloni bakteri (Chairunnisa, 2019).

Isolat bakteri yang bersifat bakteri lipolitik akan membentuk zona bening disekitar koloni bakteri. Zona ini terbentuk karena isolat mampu menghidrolisis tween-80 menjadi asam lemak dan menghasilkan enzim lipase. Penggunaan $CaCl_2$, $2H_2O$ pada media menghasilkan ion kalsium yang berhubungan langsung dengan asam lemak. Adanya endapan putih keruh dari asam lemak dan ion kalsium dapat terlihat di sekitar area koloni bakteri (Mazhar et al., 2018).

Untuk melihat kemampuan bakteri lipolitik dapat dilakukan dengan perhitungan aktivitas indeks lipolitik. Diameter zona bening dapat diukur dengan mengukur diameter terendah dan tertinggi (Khurniyati et al, 2022). Menurut (Rosdi et al., 2022), untuk melihat kemampuan indeks aktivitas lipolitik dihitung dengan membagi diameter zona bening dan diameter koloni bakteri. Zona bening dipengaruhi oleh media dan kondisi lingkungan. Menurut (Astuti, 2017) mengatakan bahwa menurunnya kadar lemak terjadi karena lemak terhidrolisis menjadi gliserol dan asam lemak bebas. Asam lemak mudah mengalami kerusakan sehingga kadar lemak mengalami penurunan.

Dari 10 isolat yang didapat, isolat dengan kode BL₁ memiliki indeks lipolitik tertinggi. Hal ini menunjukkan bahwa isolat dengan kode BL₁ memiliki kemampuan mendegradasi minyak lebih besar dibandingkan dengan isolat

lainnya. Menurut penelitian (Chairunnisa, 2019), adanya bakteri yang tumbuh di area zona bening menunjukkan bahwa bakteri memiliki kemampuan dalam mendegradasi lipid/lemak. Karena semakin besar daerah zona bening yang terbentuk, maka semakin besar kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim ekstraseluler lipase untuk mendegradasi lipid. Sehingga dapat dikatakan bakteri yang terdapat pada limbah cair kelapa sawit toleran terhadap minyak dan mampu memanfaatkan sumber karbon minyak tersebut.

SIMPULAN

Kesimpulan penelitian yang telah dilakukan didapatkan 10 isolat bakteri lipolitik dari 3 sampel. Hasil 10 jenis isolat yang didapatkan memiliki potensi dalam mendegradasi lipid, isolat yang memiliki indeks lipolitik tertinggi adalah isolat dengan kode BL₁ sebesar 0,48 dengan zona bening 8,6. Dan isolat yang memiliki indeks lipolitik terendah adalah isolat dengan kode BL₅ sebesar 0,14 mm dengan diameter zona bening 8,7. Secara mikroskopis berdasarkan pewarnaan gram diketahui terdapat 70 % isolat yang bersifat gram positif dan terdapat 30% isolat yang bersifat gram negatif.

DAFTAR PUSTAKA

- Amanda, N. W., Artika, I. M., & Rusmana, I. (2019). *Pemanfaatan Bakteri Pereduksi Emisi Gas Metana pada Limbah Cair Kelapa Sawit (Elaeis guineensis Jacq .). 4(2), 23–37.*
- Astuti, M. E. (2017). Identifikasi Uji Kemampuan Hidrolisis Lemak dan Penentuan Indeks Zona Bening Asam Laktat pada Bakteri dalam Wadi Makanan Traditional Kalimantan Tengah. *Jurnal Bionature*, 18 (2) , 87-98.
- Chairunnisa, R. dan A. K. (2019). *Jurnal Ilmiah Biologi UMA (JIBIOMA). 1(November 2019), 44–52.*
- Ibiyemi, F. M., & Oluwafemi, O, J. (2022). Assessment of lipolytic activities of bacteria isolated from palm oil processing cottage industries in Ekiti State, Nigeria. *World Journal of Advanced Research and Reviews*, 15(1), 225–232. <https://doi.org/10.30574/wjarr.2022.15.1.0696>
- Jekti, D. S. (2018). *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi (ISBN : 978-602-61265-2-8), Juni 2018. 1–9.*
- Khurniyati et al. (2022). Screening Lipolytic from Soil Bacterial. *ALKIMIA : Jurnal Ilmu Kimia dan Terapan*, 6(1), 224–228.
- Kosasi, C., Lolo, W. A., & Sudewi, S. (2019). Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Bakteri yang Berasosiasi dengan Alga *Turbinaria ornata* (Turner) J. Agardh serta Identifikasi secara Biokimia. *Pharmacon*, 8(2), 351. <https://doi.org/10.35799/pha.8.2019.29301>
- Mazhar, H., Abbas, N., Zamir, T., Hussain, Z., & Ali, S. S. (2018). Optimization Study of Lipolytic Enzyme from *Bacillus Cereus*, PCSIR NL-37. *Punjab*

University Journal of Zoology, 33(2), 217–224.
<https://doi.org/10.17582/journal.pujz/2018.33.2.217.224>

- Melati, I. (2020). *Pusat Penelitian Limnologi LIPI. Rahayu 2005*, 272–286.
- Nurzulian, V. M., Sulistyanningtyas, A. R., & Ethica, S. N. (2021). Karakterisasi Bakteri Lipolitik *Bacillus* sp. pada Wadi Organ Pencernaan Ikan Sidat (*Anguilla* sp.). *Pro Food (Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan)*, 7(2), 59–67.
- Panjaitan, F. J., Bachtiar, T., Arsyad, I., Lele, O. K., & Indriyani, W. (2020). Karakterisasi Mikroskopis dan Uji Biokimia Bakteri Pelarut Fosfat (BPF) dari Rhizosfer Tanaman Jagung Fase Vegetatif. *Jurnal Ilmu Pertanian Dan Lingkungan*, 1(1), 9–17.
- Rahmawati, L. R., Adlina, S., & Yuliana, A. (2021). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penghasil Protease Ekstraseluler dari Limbah Cair Tahu Putih. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan dan Farmasi*, 21(2), 187–193.
- Kawuri, R., & Darmayasa, I. B. G. (2022). *Journal of Biological Sciences*. 9(1), 184–189. <https://doi.org/10.24843/metamorfosa.2021.v09.i01.p18>
- Rosdi, A., Dahalan, F. A., Zhan, L. Z., Babakhani, P., Shams, S., Engineering, C., & Area, P. (2022). Collection of Samples. *Environmental and Toxicology Management*, 2, 1–5.