

## ISOLASI BAKTERI FIKSASI NITROGEN DAN FOSFAT PADA LIMBAH CAIR KARET (*Hevea brasiliensis*)

Sartika Kumala Dalimunthe<sup>1</sup>, Kartika Manalu<sup>2</sup>

Universitas Islam Negeri Sumatera Utara<sup>1,2</sup>

sartikakumala00@gmail.com<sup>1</sup>

### ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui bakteri yang mampu memfiksasi nitrogen dan melarutkan fosfat pada limbah cair karet di Desa Perdamean, Kabupaten Labuhanbatu. Metode penelitian yang digunakan yaitu metode deskripsi dengan teknik isolasi bakteri kemudian dilakukan pengujian yaitu uji kemampuan fiksasi nitrogen, dan uji kemampuan pelarut fosfat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat bakteri yang mampu dalam memfiksasi nitrogen ditemukan isolat yang memiliki nilai absorbansi tinggi yaitu 1.340 ABS. Pada uji kemampuan pelarut fosfat terdapat 2 isolat yang tidak mampu dalam melarutkan fosfat. Kesimpulannya, melakukan isolasi bakteri fiksasi nitrogen dan fosfat pada limbah cair karet merupakan cara untuk mencegah pencemaran dan merusak ekosistem yang ada dilingkungan.

**Kata Kunci:** Fiksasi Nitrogen, Limbah Cair Karet, Pelarut Fosfat

### ABSTRACT

*This research was conducted with the aim of knowing the types of bacteria that are able to fix nitrogen and dissolve phosphate in liquid rubber waste in Perdamean Village, Labuhanbatu Regency. The research method used is the description method with bacterial isolation techniques, and then tests are carried out, namely testing the ability of nitrogen fixation and testing the ability of phosphate solubilizers. The results showed that bacterial isolates capable of fixing nitrogen were found to have high absorbance values, namely 1,340 ABS. In the phosphate solubilizing ability test, there were 2 isolates that were unable to dissolve phosphate. In conclusion, isolating nitrogen and phosphate fixation bacteria from liquid rubber waste is a way to prevent pollution and the destruction of existing ecosystems in the environment.*

**Keywords:** Nitrogen Fixation, Rubber Liquid Waste, Phosphate Solvent

### PENDAHULUAN

Indonesia memiliki potensi lahan dengan perkebunan karet yang paling luas didunia, yaitu sekitar 3,6 juta hektare area (Ha), juga sebagian besar merupakan perkebunan milik rakyat dengan produksi indonesia mencapai 3,6 juta ton per tahun. Potensi karet alam cukup besar di pasar internasional dikarenakan oleh keunggulannya yang memiliki daya elastis sempurna, memiliki plastisitas yang baik, mempunyai daya aus yang tinggi, tidak mudah panas dan memiliki

daya tahan yang tinggi terhadap retakan (Andriani et al., 2019).

Industri karet dengan bahan baku yang menghasilkan limbah cair yang bersumber dari proses koagulasi, penggilingan, peremahan, dan pencucian. Limbah ini bersifat asam dengan nilai pH 4,2-6,3 (Rusdiansyah, 2018). Industri baru yang akan dibangun dapat meningkatkan kesejahteraan bagi masyarakat, namun juga dapat berdampak negatif terhadap lingkungan hidup. Permasalahan yang timbul perlu diperhatikan beberapa efeknya seperti limbah yang dihasilkan salah satunya yaitu industri karet. Industri karet akan menghasilkan limbah cair yang mengandung senyawa organik yang relatif tinggi (Laina et al., 2018).

Limbah akan berpotensi menimbulkan pencemaran terhadap lingkungan salah satunya adalah limbah cair. Limbah cair merupakan campuran atau gabungan dari air dan juga bahan pencemar yang terbawa oleh air, baik dalam keadaan terlarut maupun tersuspensi yang terbuang dari sumber domestik (perumahan, perkantoran, dan perdagangan), sumber industri dan disaat yang tertentu akan tercampur dengan air dan juga tanah, air hujan maupun air permukaan (Sitorus et al., 2021).

Limbah cair industri karet merupakan habitat dari beberapa mikroba yang ada pada limbah. Limbah cair karet memiliki beberapa senyawa salah satunya nitrogen dan fosfat. Metabolisme nitrogen mengandung senyawa-senyawa yang dimineralisasi oleh mikroorganisme dan nitrogen akan dilepas sebagai ammonia (Islam et al., 2019). Sama halnya dengan bakteri pelarut fosfat dapat melarutkan fosfat dengan melepas senyawa fosfat melalui mekanisme pembentukan khelat, reaksi pertukaran, dan produksi asam organik (Asril & Lisafitri, 2020).

Maka untuk mengurangi dampak negatif tersebut dilakukannya pengujian pada limbah untuk pemulihan secara biologi terhadap komponen lingkungan yang tercemar menjadi bentuk yang tidak mengandung racun. Penelitian tentang bakteri limbah cair industri karet telah dilakukan sebelumnya oleh Kuruvila et al. (2021) yang berfokus pada pengendalian dan pengelolaan air limbah karet dengan menggunakan konsorsium bakteri, jamur, actinomycetes dan bakteri. Desa Perdamean merupakan desa yang terletak di Kecamatan Rantau Selatan Kabupaten Labuhanbatu yang memiliki aliran sungai kecil di desa tersebut. Air sungainya bercampur dengan limbah pabrik karet sehingga menyebabkan sungai di Desa Perdamean mengalami pencemaran dan air tersebut memiliki warna hitam dan berminyak. Berdasarkan hasil survei lapangan dan wawancara warga Desa Perdamean bahwa air tersebut tidak lagi digunakan dikarenakan air yang sudah tercemar oleh limbah pabrik karet.

Jika kandungan bahan organik limbah cair karet tinggi dalam sungai yang tercemar akan menyebabkan rusaknya ekosistem yang ada di sungai Desa Perdamean. Untuk mengurangi pencemaran lingkungan tersebut diperlukan pengujian pada limbah cair karet tersebut. Didalam limbah cair terkandung beberapa bahan organik seperti nitrogen dan juga fosfat, sehingga untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam fiksasi nitrogen dan melarutkan fosfat

maka dilakukannya isolasi pada limbah cair karet di Desa Perdamean, Kabupaten Labuhanbatu. Penelitian terkait limbah cair karet belum ada yang melakukan penelitian di Desa Perdamean Kecamatan Rantau Selatan Kabupaten Labuhanbatu, sehingga perlu dilakukan penelitian tentang isolasi bakteri fiksasi nitrogen dan fosfat limbah cair karet di sungai Desa Perdamean. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui bakteri yang mampu memfiksasi nitrogen dan melarutkan fosfat pada limbah cair karet di Desa Perdamean, Kabupaten Labuhanbatu.

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian ini akan dilakukan pada bulan November - Desember 2022. Pengambilan sampel dilakukan pada pembuangan air limbah menuju sungai Desa Perdamean Kabupaten Labuhanbatu, Rantauprapat. Isolasi bakteri dilakukan di UPT. Laboratorium Mikrobiologi FMIPA USU, Medan, Jalan Bioteknologi No. 1 Unit 3, FMIPA, Padang Bulan, Medan Baru, Medan. Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode deskripsi yang pengambilan sampelnya dilakukan dari suatu lingkungan yang akan dideskripsikan. Sampel yang sudah diambil dari tempat pengambilan aliran limbah menuju sungai akan diisolasi untuk mengetahui isolat bakteri yang mampu memfiksasi nitrogen dan melarutkan fosfat pada limbah cair industri karet.

### **Alat dan Bahan Penelitian**

Peralatan yang digunakan yaitu autoklaf, cawan petri, inkubator, tabung reaksi, gelas ukur, labu ukur, batang pengaduk, rak tabung reaksi, lemari pendingin, mikroskop, spektrofotometer, aluminium foil, pipet tetes, kamera, laminar air flow, kertas label, jarum oxe, botol spesimen, kapas, tisu, spiritus, hot plate, vortex, cover glass, objek glass, spatula dan mikro pipet. Bahan yang digunakan yaitu media NA (Nutrinet Agar) sebagai pertumbuhan mikro-organisme, aquades, minyak imersi, safranin, kristal violet, lugol, alkohol 96%, NaCl, Nitrat, racikan media Pikovskaya, Pepton Broth, dan limbah cair karet diambil dari tempat pembuangan terakhir limbah karet menuju ke sungai tempat limbah tersebut akan dibuang.

### **Pengambilan Sampel**

Adapun sampel yang akan digunakan diambil dari 3 titik limbah cair karet sebelum menuju kesugai tempat limbah akan dibuang. Kemudian dimasukkan kedalam botol sampelnya yang akan digunakan. Sampel diambil dengan cara membuka tutup botol yang akan digunakan, setelah itu tenggelamkan botol tersebut kedalam sungai pembuangan limbah karet lalu ditutup kembali dan diberi label.

### **Pembuatan Media**

Dilarutkan media NA sebanyak 5 gram, lalu masukkan aquadest sebanyak 100 ml kedalam beaker glass, lalu media dihomogenkan sekaligus dipanaskan diatas hot plate hingga mendidih. Setelah itu, media NA dimasukkan kedalam autoklaf untuk disterilkan selama 15 menit pada suhu 121<sup>0</sup>C. Setelah selesai di sterilkan, media agar dituangkan kedalam cawan petri.

### **Isolasi Bakteri**

Sampel limbah karet diencerkan sebanyak 10 ml kemudian dimasukkan kedalam Erlenmeyer yang berisi 90 ml larutan NaCl yang dihomogenkan dengan vortex sehingga terbentuk pengenceran 10<sup>-1</sup> sampai 10<sup>-7</sup>. Diambil 1 ml suspensi pada seri pengenceran terakhir kemudian disebar diatas cawan petri dengan metode tuang pada media lalu diratakan dan diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 24-48 jam. Pemurnian isolat bakteri dilakukan dengan menggunakan metode cawan gores (*streak plate*) yang menunjukkan morfologi dan warna yang berbeda pada koloni bakteri. Pemurnian bakteri dilakukan secara berulang dengan memisahkan koloni hingga diperoleh kultur murni dengan cara isolat murni diambil sebanyak 2-3 ose kemudian dipindahkan ke media NA, lalu diinkubasi selama 24-48 jam dengan suhu 37<sup>0</sup>C.

### **Karakterisasi dan Morfologi Isolat Bakteri**

Karakterisasi dan morfologi bakteri yang tumbuh secara makroskopis meliputi bentuk, elevasi, tepian dan warna koloni. Pada pengamatan mikroskopis dilakukan dengan melakukan pewarnaan gram. Uji biokimia bakteri meliputi uji katalase, uji sitrat, uji motilitas, dan uji TSIA (Triple Sugar Iron Agar).

### **Uji Katalase**

Biakan murni bakteri dari media agar diambil satu ose kemudian dioleskan keatas kaca objek. Lalu ditetesi larutan hidrogen peroksida 1-2 tetes. Reaksi dinyatakan positif apabila muncul gelembung gas.

### **Uji Sitrat**

Bakteri diambil satu jarum ose, kemudian ditanam pada media simmon citrate dengan cara menggoreskan jarum ose runcing secara zig-zag. Lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C. Reaksi dinyatakan positif apabila timbul warna biru tua terang.

### **Uji Motilitas**

Biakan bakteri diambil menggunakan jarum ose secara aseptik dan diinokulasikan secara vertikal pada media NA kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C untuk melihat pertumbuhan dari bakteri. Apabila pertumbuhan pada permukaan medium dan tidak ada bekas pada tusukan atau

menyebarkan dikatakan positif.

### **Uji TSIA (Triple Sugar Iron Agar)**

Satu koloni isolat bakteri diinokulasikan pada media TSIA dengan cara ditusuk tegak lurus pada bagian ujung dan cara zig-zag pada bagian miring. Lalu biakan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C kemudian diamati perubahan pada media.

### **Uji Kemampuan Bakteri Fiksasi N<sub>2</sub>**

Bakteri ditumbuhkan pada media pepton broth sebanyak 10 ml selama 5-6 hari. Kemudian media pepton broth dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 4.00 rpm selama 10 menit. Tambahkan 1-2 tetes garam signette dan 0,5 ml nessler pada supernatan hasil sentrifugasi, kemudian di spektrofotometer dengan panjang gelombang 425 nm di konvensi menjadi ppm dengan menggunakan kurva standar NH<sub>4</sub>. Perubahan warna yang muncul pada sampel dapat menjadi acuan adanya kandungan unsur nitrogen dalam bentuk ammonium.

Kemampuan melarutkan fosfat dapat dilakukan dengan metode inokulasi. Diambil satu ose bakteri murni, lalu diinokulasikan membentuk titik pada media selektif Pikovskaya Agar. Kemudian dilakukan inkubasi selama 7 hari pada suhu ruang. Kemampuan melarutkan fosfat dapat ditandai dengan adanya zona bening yang mengelilingi koloni. Kemudian dilakukan penghitungan indeks zona bening.

$$\text{Indeks Zona Bening} = \frac{\text{Total Diameter (Zona Bening)}}{\text{Diameter Koloni}}$$

### **Pewarnaan Gram**

Pewarnaan gram dilakukan untuk memudahkan melihat bakteri dengan mikroskop, memperjelas ukuran dan bentuk bakteri, untuk melihat struktur luar dan struktur dalam bakteri, menghasilkan sifat fisik dan kimia serta meningkatkan kontras mikroorganisme disekitarnya. Dioleskan bakteri yang sudah dibiakkan pada kaca objek yang sudah di tetesi NaCl, lalu biarkan mengering. Kemudian preparat ditetesi larutan Kristal violet 0,5% lalu diamkan selama 30 detik, bilas dengan air zat warna yang berlebih.

Tambahkan larutan lugol selama 30 detik, lalu bilas dengan air. Hilangkan warnanya menggunakan alkohol 96% selama 10- 20 detik, lalu bilas dengan air. Kemudian tetesi preparat dengan larutan safranin 0,25% selama 30 detik, lalu bilas dengan air setelah itu dibiarkan mengering. Jika sudah kering, teteskan 1 tetes minyak imersi. Amati dibawah mikroskop. Apabila hasil pengamatan berwarna ungu maka dikatakan bakteri gram positif, sedangkan hasil pengamatan berwarna merah maka dikatakan bakteri gram negatif.

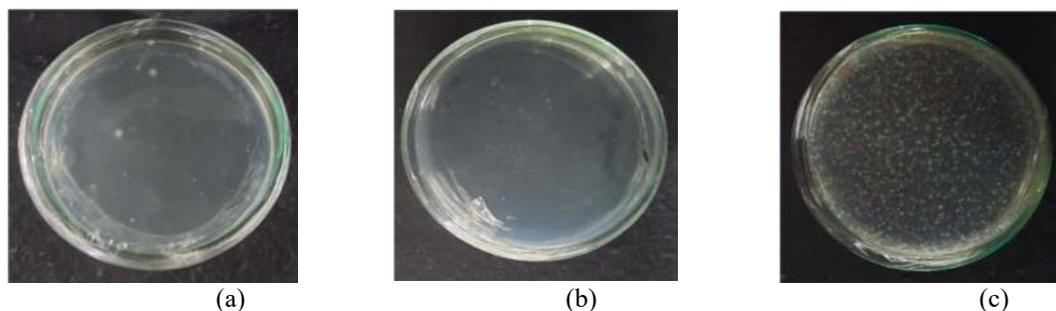
### Analisis Data

Teknik analisis data yang digunakan yaitu metode analisa deskriptif kualitatif dan kuantitatif. Metode ini digunakan untuk menganalisis data dengan cara mendeskripsikan atau menggambarkan kondisi yang sudah terkumpul melalui pengamatan disajikan dalam bentuk tabel dan juga kurva kemudian diuraikan untuk membuat kesimpulan.

## HASIL PENELITIAN

### Hasil Isolasi Bakteri

Hasil isolasi bakteri dari sampel limbah cair karet di Desa Perdamean diperoleh 10 isolat bakteri. Berikut adalah hasil isolasi bakteri pada limbah karet.



**Gambar 1. (a) Sampel 1 Limbah Cair Karet, (b) Sampel 2 Limbah Cair Karet, (c) Sampel 3 Limbah Cair Karet**

Gambar 1. diatas dapat dilihat bahwa pada sampel 1 koloni bakteri yang tumbuh ada 3 koloni. Pada sampel ke 2 hanya terdapat 1 koloni bakteri yang tumbuh pada media. Kemudian pada limbah ke 3 koloni bakteri yang tumbuh melebihi ambang batas sehingga tidak diketahui berapa banyak bakteri yang tumbuh sehingga koloni yang akan digunakan ada 6 koloni bakteri.

### Karakterisasi dan Morfologi Isolat Bakteri

Pengamatan karakteristik isolat bakteri berupa bentuk, elevasi, tepi dan warna koloni. Berikut hasil pengamatan karakteristik morfologi isolat bakteri .

**Tabel 1. Karakteristik Morfologi Isolat Bakteri**

No.	Kode Isolat	Karakteristik Morfologi Isolat			
		Bentuk	Tepi	Elevasi	Warna
1	BS <sub>1</sub>	Circular	Entire	Flat	Putih Susu
2	BS <sub>2</sub>	Circular	Entire	Convex	Putih Susu
3	BS <sub>3</sub>	Circular	Entire	Flat	Putih Susu
4	BS <sub>4</sub>	Circular	Entire	Raised	Putih Susu

**Tabel 1. (Lanjutan)**

No.	Kode Isolat	Karakteristik Morfologi Isolat			
		Bentuk	Tepi	Elevasi	Warna
5	BS <sub>5</sub>	Circular	Entire	Flat	Putih Susu
6	BS <sub>6</sub>	Circular	Entire	Flat	Pink
7	BS <sub>7</sub>	Circular	Entire	Convex	Pink
8	BS <sub>8</sub>	Circular	Entire	Convex	Pink
9	BS <sub>9</sub>	Circular	Undulate	Flat	Putih Susu
10	BS <sub>10</sub>	Circular	Entire	Flat	Putih Susu

Tabel 1. diatas dapat dilihat bahwa bentuk yang dominan dari koloni bakteri yang didapat adalah sirkular, tepi yang banyak didapatkan adalah entire, elevasi yang banyak didapatkan adalah flat dan warna yang dominan pada koloni bakteri adalah warna putih susu.

Bentuk sirkular pada koloni bakteri yang didapatkan ada 10 isolat yaitu BS<sub>1</sub>, BS<sub>2</sub>, BS<sub>3</sub>, BS<sub>4</sub>, BS<sub>5</sub>, BS<sub>6</sub>, BS<sub>7</sub>, BS<sub>8</sub>, BS<sub>9</sub>, dan BS<sub>10</sub>. Tepi entire yang didapatkan pada koloni bakteri ada 9 isolat yaitu BS<sub>1</sub>, BS<sub>2</sub>, BS<sub>3</sub>, BS<sub>4</sub>, BS<sub>5</sub>, BS<sub>6</sub>, BS<sub>7</sub>, BS<sub>8</sub>, dan BS<sub>10</sub>. Elevasi flat yang didapatkan pada koloni bakteri ada 6 isolat yaitu BS<sub>1</sub>, BS<sub>3</sub>, BS<sub>5</sub>, BS<sub>6</sub>, BS<sub>9</sub>, dan BS<sub>10</sub>. Kemudian warna putih susu yang didapatkan pada koloni bakteri ada 7 isolat yaitu BS<sub>1</sub>, BS<sub>2</sub>, BS<sub>3</sub>, BS<sub>4</sub>, BS<sub>5</sub>, BS<sub>9</sub>, dan BS<sub>10</sub>.

### Uji Biokimia

Sepuluh isolat yang diperoleh dari hasil isolasi bakteri pada limbah karet dilakukan uji biokimia yaitu uji katalase, uji sitrat, uji motilitas, dan uji TSIA. Berikut hasil uji biokimia dari sepuluh isolat bakteri pada limbah karet dapat dilihat pada tabel.

**Tabel 2. Uji Biokimia**

No.	Kode Isolat	Uji Biokimia			
		Katalase	Sitrat	Motilitas	TSIA
1	BS <sub>1</sub>	+	+	+	<u>K</u> gas <sup>+</sup> K H <sub>2</sub> S <sup>-</sup>
2	BS <sub>2</sub>	+	+	+	<u>K</u> gas <sup>-</sup> A H <sub>2</sub> S <sup>-</sup>
3	BS <sub>3</sub>	+	+	-	<u>K</u> gas <sup>+</sup> K H <sub>2</sub> S <sup>-</sup>
4	BS <sub>4</sub>	+	+	-	<u>K</u> gas <sup>+</sup> K H <sub>2</sub> S <sup>-</sup>
5	BS <sub>5</sub>	-	-	-	<u>K</u> gas <sup>-</sup> K H <sub>2</sub> S <sup>-</sup>
6	BS <sub>6</sub>	+	+	+	<u>K</u> gas <sup>+</sup> K H <sub>2</sub> S <sup>+</sup>
7	BS <sub>7</sub>	+	+	+	<u>K</u> gas <sup>+</sup> K H <sub>2</sub> S <sup>+</sup>
8	BS <sub>8</sub>	+	+	+	<u>K</u> gas <sup>+</sup> K H <sub>2</sub> S <sup>-</sup>

Tabel 2. (Lanjutan)

No.	Kode Isolat	Uji Biokimia			
		Katalase	Sitrat	Motilitas	TSIA
9	BS9	+	+	+	<u>K</u> gas <sup>+</sup> K H <sub>2</sub> S <sup>-</sup>
10	BS10	+	+	+	<u>K</u> gas <sup>+</sup> K H <sub>2</sub> S <sup>-</sup>

Pada tabel terlihat bahwa 10 isolat memiliki hasil dari uji biokimia yang berbeda-beda. Pada uji katalase, 9 isolat yang menunjukkan reaksi positif yaitu isolat BS<sub>1</sub>, BS<sub>2</sub>, BS<sub>3</sub>, BS<sub>4</sub>, BS<sub>6</sub>, BS<sub>7</sub>, BS<sub>8</sub>, BS<sub>9</sub>, dan BS<sub>10</sub>. Uji sitrat yang dilakukan terdapat 9 isolat yang menunjukkan reaksi positif yaitu isolat BS<sub>1</sub>, BS<sub>2</sub>, BS<sub>3</sub>, BS<sub>4</sub>, BS<sub>6</sub>, BS<sub>7</sub>, BS<sub>8</sub>, BS<sub>9</sub>, dan BS<sub>10</sub>. Pada uji motilitas didapatkan 7 isolat yang menunjukkan reaksi positif yaitu isolat BS<sub>1</sub>, BS<sub>2</sub>, BS<sub>6</sub>, BS<sub>7</sub>, BS<sub>8</sub>, BS<sub>9</sub>, dan BS<sub>10</sub>. Kemudian uji TSIA didapatkan 8 isolat yang menunjukkan reaksi positif yaitu BS<sub>1</sub>, BS<sub>3</sub>, BS<sub>4</sub>, BS<sub>6</sub>, BS<sub>7</sub>, BS<sub>8</sub>, BS<sub>9</sub>, dan BS<sub>10</sub>.

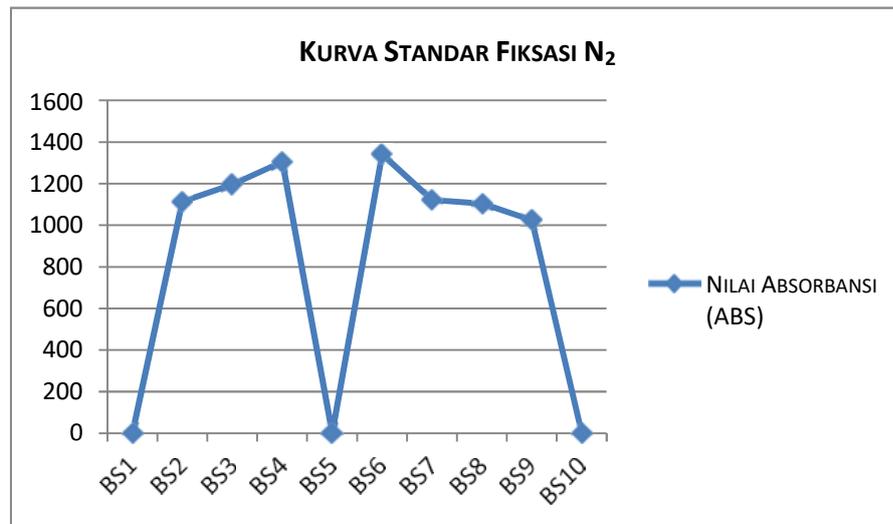
### Uji Kemampuan Bakteri Bakteri Fiksasi N<sub>2</sub>

Isolat bakteri yang didapatkan melalui pengamatan kemampuan fiksasi N<sub>2</sub> dikonvensi dengan menggunakan uv-spektrofotometer. Berikut hasil pengamatan kemampuan fiksasi N<sub>2</sub> dapat dilihat pada tabel.

Tabel 3. Uji Kemampuan Bakteri Fiksasi N<sub>2</sub>

No.	Kode Isolat	Nilai (ABS)	Absorbansi
1	BS <sub>1</sub>	0,852	
2	BS <sub>2</sub>	1.112	
3	BS <sub>3</sub>	1,196	
4	BS <sub>4</sub>	1,305	
5	BS <sub>5</sub>	1,992	
6	BS <sub>6</sub>	1,340	
7	BS <sub>7</sub>	1,120	
8	BS <sub>8</sub>	1,103	
9	BS <sub>9</sub>	1,024	
10	BS <sub>10</sub>	0,947	

Tabel 3 menunjukkan bahwa 10 isolat yang di uji kemampuan fiksasi N<sub>2</sub> memiliki nilai absorbansi yang berbeda. Pada uji kemampuan fiksasi N<sub>2</sub>, nilai ABS terkecil terdapat pada isolat BS<sub>1</sub>, sedangkan nilai ABS yang tertinggi terdapat pada isolat BS<sub>5</sub>. Adapun kurva standar fiksasi nitrogen dapat dilihat sebagai berikut.

Gambar 2. Kurva Standar Fiksasi N<sub>2</sub>

### Uji Kemampuan Bakteri Pelarut Fosfat

Isolat bakteri yang didapatkan melalui pengamatan kemampuan pelarut fosfat ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni kemudian selanjutnya dilakukan penghitungan indeks pelarut fosfat. Berikut hasil uji kemampuan bakteri pelarut fosfat dapat dilihat pada tabel.

Tabel 4. Uji Kemampuan Bakteri Pelarut Fosfat

No.	Kode Isolat	Zona Bening	Diameter Koloni	Indeks Pelarut Fosfat (IPF)
1	BS <sub>1</sub>	0,4	0,4	0
2	BS <sub>2</sub>	1,8	0,6	3
3	BS <sub>3</sub>	2,1	1,1	1,9
4	BS <sub>4</sub>	1,9	0,6	3,1
5	BS <sub>5</sub>	2,1	0,4	5,2
6	BS <sub>6</sub>	2,2	1,2	1,8
7	BS <sub>7</sub>	1,6	1,6	0
8	BS <sub>8</sub>	1,7	1,1	1,5
9	BS <sub>9</sub>	1	0,8	1,2
10	BS <sub>10</sub>	1,5	0,8	1,8

Tabel 4. menunjukkan bahwa dari 10 isolat yang dilakukan pengujian kemampuan bakteri pelarut fosfat diperoleh 8 isolat yang memiliki potensi pelarut fosfat, sedangkan 2 isolat tidak menunjukkan adanya potensi pelarut fosfat. Dari pengujian kemampuan pelarut fosfat masing-masing isolat mempunyai aktivitas yang berbeda-beda.

Pada bakteri uji kemampuan pelarut fosfat yang didapatkan zona bening pling besar pada isolat BS<sub>6</sub>, sedangkan zona bening kecil didapatkan pada isolat BS<sub>2</sub>, BS<sub>3</sub>, BS<sub>4</sub>, BS<sub>5</sub>, BS<sub>8</sub>, BS<sub>9</sub>, BS<sub>10</sub> dan 2 isolat yang tidak menunjukkan adanya potensi pelarut fosfat yaitu BS<sub>1</sub> dan BS<sub>7</sub>. Berdasarkan kemampuan pelarut fosfat

beberapa bakteri uji, maka 10 isolat dilakukan untuk pewarnaan gram dan uji biokimia.

### Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri yang ada pada limbah cair karet, dilakukan dengan menggunakan beberapa media. Sepuluh isolat bakteri yang ditemukan pada limbah cair karet dilakukan uji pewarnaan gram yang bertujuan agar dapat membedakan bakteri kedalam dua kelompok besar yaitu gram positif dan gram negatif. Hasil pewarnaan gram dapat dilihat pada tabel.

**Tabel 5. Pewarnaan Gram**

No.	Kode Isolat	Pewarnaan Gram	
		Bentuk	Keterangan
1	BS1	Monokokus	Gram Positif
2	BS2	Monobasil	Gram Negatif
3	BS3	Monobasil	Gram Negatif
4	BS4	Monobasil	Gram Negatif
5	BS5	Monobasil	Gram Negatif
6	BS6	Streptobasil	Gram Negatif
7	BS7	Streptobasil	Gram Positif
8	BS8	Streptokokus	Gram Positif
9	BS9	Streptobasil	Gram Positif
10	BS10	Streptobasil	Gram Positif

Tabel 5. menunjukkan bahwa 10 isolat yang diuji pewarnaan gram, didapatkan gram positif berbentuk monokokus yaitu BS<sub>1</sub>, sedangkan gram negatif berbentuk monobasil yaitu BS<sub>2</sub>, BS<sub>3</sub>, BS<sub>4</sub>, dan BS<sub>5</sub>. Isolat bakteri gram positif berbentuk streptokokus yaitu BS<sub>8</sub>, lalu gram positif berbentuk streptobasil yaitu BS<sub>9</sub> dan BS<sub>10</sub>, kemudian gram positif berbentuk treptokkokus yaitu BS<sub>7</sub>, sedangkan gram negatif berbentuk streptobasil yaitu BS<sub>6</sub>. Isolat bakteri gram positif ditandai dengan sel yang berwarna ungu sedangkan isolat bakteri gram negatif ditandai dengan sel yang berwarna merah.

## PEMBAHASAN

### Isolasi Bakteri

Pengambilan sampel limbah cair karet dari 3 titik yang berbeda pada pengenceran  $10^{-7}$  menghasilkan 10 isolat. Hasil pembiakan bakteri dari ketiga sampel tumbuh dua jenis koloni yaitu koloni yang tidak memiliki warna terdapat pada sampel ke 1 dan 2 kemudian koloni berwarna merah muda terdapat pada sampel ke 3. Pertumbuhan koloni bakteri warna merah menunjukkan bahwa bakteri tersebut dapat memfermentasi laktosa dan memproduksi asam dari hasil fermentasi sehingga dapat merubah warna menjadi merah, sedangkan pertumbuhan koloni yang tidak berwarna menunjukkan bakteri tersebut tidak mampu memfermentasikan laktosa (Ginting et al., 2018).

Pada sampel 1 memiliki 3 koloni bakteri, kemudian pada sampel 2 memiliki 1 koloni, dan sampel 3 memiliki jumlah koloni yang memiliki ambang batas. Sepuluh isolat yang didapatkan kemudian diberi kode BS<sub>1</sub>, BS<sub>2</sub>, BS<sub>3</sub>, BS<sub>4</sub>, BS<sub>5</sub>, BS<sub>6</sub>, BS<sub>7</sub>, BS<sub>8</sub>, BS<sub>9</sub>, dan BS<sub>10</sub>. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat dilihat koloni yang tumbuh pada media yang berwarna putih, memiliki bentuk yang bulat dan juga bersifat universal sehingga bakteri tumbuh baik gram positif maupun gram negatif. Dilakukannya isolasi guna untuk mempermudah dalam menghitung koloni bakteri yang akan tumbuh. Koloni dari berbagai konsentrasi pengenceran yang tumbuh dihitung sehingga dapat dilihat hasilnya.

### **Karakteristik dan Morfologi Isolat Bakteri**

Hasil karakteristik yang dilakukan pada 10 isolat limbah cair karet secara mikroskopik morfologi yang di amati didapatkan bentuk, tepi, elevasi dan warna yang berbeda-beda. Menurut Ismail et al. (2017) bahwa karakteristik dapat dilakukan berdasarkan sifat morfologi koloni, morfologi sel dan biokimia. Sepuluh isolat yang didapat memiliki morfologi yang berbeda seperti pada BS<sub>1</sub> memiliki bentuk bulat, margin yang rata, dengan elevasi hampir rata dengan medium dan berwarna putih susu. Pada BS<sub>2</sub> memiliki bentuk bulat, margin yang rata, dengan elevasi cembung dan berwarna putih susu. Pada BS<sub>3</sub> memiliki bentuk bulat, margin yang rata, dengan elevasi hampir rata dengan medium, dan berwarna putih susu. Pada BS<sub>4</sub> memiliki bentuk bulat, margin yang rata, dengan elevasi rata pada seluruh permukaan, dan berwarna putih susu.

Kemudian pada BS<sub>5</sub> memiliki bentuk bulat, margin yang rata, dengan elevasi hampir rata dengan medium, dan berwarna putih susu. Pada BS<sub>6</sub> memiliki bentuk bulat, margin yang rata dengan elevasi hampir rata dengan medium, dan berwarna merah muda. Pada BS<sub>7</sub> memiliki bentuk bulat, margin yang rata, kemudian elevasi cembung dan berwarna merah muda. Pada BS<sub>8</sub> memiliki bentuk bulat, margin yang rata kemudian elevasi permukaan melengkung dan berwarna merah muda. Pada BS<sub>9</sub> memiliki bentuk bulat, margin bergelombang kemudian elevasi nyaris rata dengan medium dan berwarna putih susu. Pada BS<sub>10</sub> memiliki bentuk bulat, margin yang rata kemudian elevasi nyaris rata dan berwarna putih susu.

### **Uji Biokimia**

Isolasi bakteri limbah cair karet dilakukan tes uji biokimia yang terdiri dari katalase, sitrat, motilitas, dan TSIA. Hasil uji katalase pada isolat limbah cair karet BS<sub>1</sub>, BS<sub>2</sub>, BS<sub>3</sub>, BS<sub>4</sub>, BS<sub>6</sub>, BS<sub>7</sub>, BS<sub>8</sub>, BS<sub>9</sub>, dan BS<sub>10</sub> menunjukkan reaksi positif yang ditandai dengan terbentuk gelembung oksigen pada permukaan koloni setelah ditetesi dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> menunjukkan bahwa organisme menghasilkan enzim katalase yang mengubah hydrogen peroksida menjadi air dan oksigen (Kosasi et al., 2019).

Pada uji sitrat pada isolat limbah cair karet pada BS<sub>1</sub>, BS<sub>2</sub>, BS<sub>3</sub>, BS<sub>4</sub>, BS<sub>6</sub>,

BS<sub>7</sub>, BS<sub>8</sub>, BS<sub>9</sub>, dan BS<sub>10</sub> menunjukkan reaksi positif. Adanya reaksi positif yang ditandai dengan perubahan media bewarna hijau berubah menjadi warna biru (Kosasi et al., 2019). Pengujian pada isolat BS<sub>5</sub> menunjukkan hasil negatif.

Pada uji motilitas terdapat 7 isolat yang bereaksi positif yaitu BS<sub>1</sub>, BS<sub>2</sub>, BS<sub>6</sub>, BS<sub>7</sub>, BS<sub>8</sub>, BS<sub>9</sub>, dan BS<sub>10</sub> sedangkan isolat BS<sub>3</sub>, BS<sub>4</sub>, dan BS<sub>5</sub> menunjukkan reaksi negatif yang tidak memiliki reaksi uji motilitas. Dilakukannya uji motilitas agar dapat mengetahui apakah reaksi bakteri yang diamati bergerak atau tidak (Panjaitan et al., 2020).

Hasil uji TSIA pada isolat BS<sub>2</sub> menghasilkan reaksi kuning/merah. Warna merah pada agar menunjukkan reaksi basa sedangkan warna kuning pada agar menunjukkan reaksi asam. Pada permukaan agar berwarna merah menunjukkan bahwa terjadinya fermentasi glukosa, sedangkan pada warna kuning dipermukaan dan bawah tabung menunjukkan terjadinya fermentasi laktosa dan sukrosa (Kosasi et al., 2019). Pada isolat BS<sub>1</sub>, BS<sub>3</sub>, BS<sub>4</sub>, BS<sub>6</sub>, BS<sub>7</sub>, BS<sub>8</sub>, BS<sub>9</sub>, dan BS<sub>10</sub> menunjukkan hasil kuning/kuning.

Hasil uji TSIA yang menunjukkan adanya reaksi suatu bakteri menghasilkan gas ada pada isolat BS<sub>1</sub>, BS<sub>3</sub>, BS<sub>4</sub>, BS<sub>6</sub>, BS<sub>7</sub>, BS<sub>8</sub>, BS<sub>9</sub>, dan BS<sub>10</sub>. Tujuan dilakukannya uji TSIA yaitu untuk mengetahui kemampuan suatu bakteri dalam memfermentasikan gula untuk menghasilkan asam atau gas. Kemudian isolat bakteri dengan kode BS<sub>6</sub> dan BS<sub>7</sub> menunjukkan hasil positif H<sub>2</sub>S. Hasil TSIA menunjukkan adanya H<sub>2</sub>S positif menunjukkan adanya endapan berwarna hitam pada bagian dasar media yang digunakan (Kosasi et al., 2019).

### **Uji Kemampuan Bakteri Fiksasi N<sub>2</sub>**

Uji kemampuan bakteri pada limbah cair karet dengan menggunakan fiksasi N<sub>2</sub> dilakukan dengan menggunakan metode uv-vis spektrofotometer kemudian dilihat nilai absorbansinya, setelah itu dibuat kurva standar isolasi yang didapatkan. Berikut ini hasil uji kemampuan bakteri fiksasi nitrogen dapat dilihat dari kurva sebagai berikut.

Pada kurva standar isolasi diatas menunjukkan bahwa nilai absorbansi yang paling tinggi didapat pada BS<sub>6</sub> dengan nilai absorbansinya sebesar 1,340, sedangkan nilai yang paling kecil didapat pada BS<sub>1</sub> dengan nilai absorbansinya sebesar 0,852. Kegunaan dari spektrofotometer uv-vis untuk menganalisis nitrogen pada sedimen melalui interaksi antara cahaya/sinar pada panjang gelombang tertentu dengan materi berupa atom atau molekul (Angraini & Yanti, 2021).

### **Uji Kemampuan Bakteri Pelarut Fosfat**

Uji kemampuan bakteri dengan menggunakan pelarut fosfat ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni kemudian dilanjutkan dengan penghitungan indeks pelarut fosfat. Hasil dari uji tersebut menunjukkan hasil

bahwa terdapat 2 isolat yang tidak berpotensi dalam pelarut fosfat yaitu pada isolat BS<sub>1</sub> dan BS<sub>7</sub>. Isolat yang memiliki nilai indeks zona bening tertinggi terdapat pada isolat BS<sub>5</sub> dengan indeks pelarut fosfat sebesar 5,2. Kemudian isolat yang memiliki zona bening terbesar selanjutnya terdapat pada isolat BS<sub>4</sub> dengan indeks pelarut fosfat sebesar 3,1. Terbentuknya zona bening menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu dalam melarutkan fosfat sehingga terbentuknya zona bening disekitar koloni bahwa isolat mampu menghasilkan asam organik yang mampu berikatan dengan ion Ca<sup>2+</sup> membentuk senyawa Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> pada media pikovskaya dan membebaskan ion H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> sehingga membentuk area berwarna lebih jernih (Asril & Lisafitri, 2020).

### **Pewarnaan Gram**

Hasil pengujian pewarnaan gram yang dilakukan pada 10 isolat limbah cair karet terdapat 2 jenis isolat berwarna ungu dan juga warna merah. Pada 10 isolat yang dilakukan uji pewarnaan gram, didapatkan gram positif yang berbentuk batang dengan kode BS<sub>7</sub>, BS<sub>9</sub>, dan BS<sub>10</sub>, sedangkan gram negatif yang berbentuk batang dengan kode BS<sub>2</sub>, BS<sub>3</sub>, BS<sub>4</sub>, BS<sub>5</sub>, dan BS<sub>6</sub>. Gram positif yang didapatkan dari pewarnaan gram berbentuk bulat yaitu BS<sub>1</sub> dan BS<sub>8</sub>, sedangkan gram positif yang berbentuk bulat tidak terdapat pada hasil pewarnaan gram. Tujuan dilakukan perwanaaan gram guna untuk mempermudah dalam melihat bakteri secara mikroskopik, melihat struktur dalam bakteri, memperjelas bentuk dan ukuran bakteri dan juga menghasilkan sifat fisik serta kimia yang ada pada bakteri melalui zat warna (Bulele et al., 2019).

Bakteri yang berbentuk monobasil pada kode isolat BS<sub>2</sub>, BS<sub>3</sub>, BS<sub>4</sub>, dan BS<sub>5</sub> menunjukkan hasil gram negatif. Pada bakteri yang berbentuk streptobasil dengan kode isolat BS<sub>6</sub> menunjukkan hasil gram negatif. Bakteri yang berbentuk streptobasil pada kode isolat BS<sub>7</sub>, BS<sub>9</sub> dan BS<sub>10</sub> menunjukkan hasil gram positif. Pada bakteri yang berbentuk monokokus terdapat pada kode isolat BS<sub>1</sub> yang termasuk dalam gram positif, sedangkan streptokokus pada kode isolat BS<sub>8</sub> termasuk dalam gram positif. Pada hasil pengamatan bakteri apabila bakteri berwarna ungu maka dikatakan bakteri gram positif, sedangkan bakteri berwarna merah maka termasuk bakteri gram negatif (Rahmawati et al., 2021).

### **SIMPULAN**

Hasil penelitian yang dilakukan diperoleh kesimpulan yaitu didapatkan hasil isolasi pada limbah cair karet terdapat 10 isolat bakteri dari 3 sampel limbah cair karet di Desa Perdamean, Kabupaten Labuhanbatu. Isolat bakteri limbah cair karet ada yang mampu dalam melarutkan fosfat, yaitu dari 10 isolat yang telah diuji kemampuannya dalam melarutkan fosfat didapatkan 8 isolat yaitu BS<sub>2</sub>,BS<sub>3</sub>,BS<sub>4</sub>, BS<sub>5</sub>, BS<sub>6</sub>, BS<sub>8</sub>,BS<sub>9</sub>, dan BS<sub>10</sub>. Sedangkan isolat bakteri yang tidak mampu dalam melarutkan fosfat yaitu, BS<sub>1</sub> dan BS<sub>7</sub>. Isolat bakteri limbah cair karet yang mampu dalam fiksasi nitrogen ada 7 isolat yang memiliki nilai

absorbansi yang tinggi yaitu, BS<sub>2</sub>, BS<sub>3</sub>, BS<sub>4</sub>, BS<sub>6</sub>, BS<sub>7</sub>, BS<sub>8</sub>, dan BS<sub>9</sub>. Kemudian isolat yang memiliki nilai absorbansi yang rendah yaitu, BS<sub>1</sub>, BS<sub>5</sub>, dan BS<sub>10</sub>.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Andriani, Y., Sari, I. R. J., Fatkhurrahman, J. A., & Harihastuti, N. (2019). Potensi Cemaran Lingkungan di Industri Karet Alam Crumb Rubber. *Prosiding SNPBS (Seminar Nasional Pendidikan Biologi dan Saintek) Ke-4*, 445–451.
- Angraini, N., & Yanti, F. (2021). Penggunaan Spektrofotometer Uv-Vis untuk Analisis Nutrien Fosfat pada Sedimen dalam Rangka Pengembangan Modul Praktikum Oseanografi Kimia. *Jurnal Penelitian Sains*, 23(2), 78. <https://doi.org/10.56064/jps.v23i2.620>
- Asril, M., & Lisafitri, Y. (2020). Isolasi Bakteri Pelarut Fosfat Genus Pseudomonas dari Tanah Masam Bekas Areal Perkebunan Karet di Kawasan Institut Teknologi Sumatera. *Jurnal Teknologi Lingkungan*, 21(1), 40–48. <https://doi.org/10.29122/jtl.v21i1.3743>
- Bulele, T., Rares, F. E., & Porotu'o, J. (2019). Identifikasi Bakteri dengan Pewarnaan Gram pada Penderita Infeksi Mata Luar di Rumah Sakit Mata Kota Manado. *EBiomedik*, 7(1), 1–7.
- Ginting, S. S. B., Suryanto, D., & Desrita, D. (2018). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Potensial Probiotik pada Saluran Pencernaan Ikan Bandeng (*Chanos chanos*). *Acta Aquatica: Aquatic Sciences Journal*, 5(1). <https://doi.org/10.29103/aa.v5i1.390>
- Islam, H., Nelvia, N., & Zul, D. (2019). Isolasi dan Uji Potensi Bakteri Fiksasi N Non Simbiotik Asal Tanah Kebun Kelapa Sawit dengan Aplikasi Tandan Kosong dan Limbah Cair Pabrik Kelapa Sawit. *Jurnal Agroteknologi*, 9(2), 35. <https://doi.org/10.24014/ja.v9i2.4508>
- Ismail, Y. S., Yulvizar, C., & Putriani, P. (2017). Isolasi, Karakterisasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Biji Kakao (*Theobroma Cacao L.*). *Jurnal Bioleuser*, 1(2), 45–53.
- 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>
- Kuruvila, S., Suresh, A., Vijayan, A., Chandrasekhar, R., & Davis, D. (2021). A Study on the Microbial Processing of Natural Rubber Wastewater Effluent From a Rubber Processing Unit. In *Advances in Bioscience and Biotechnology Research, 1*. Darshan Publishers.
- Laina, L., Mida, M., Roaini, R., & kapli Hari, H. (2018). Uji kualitas Air Sungai Sekitar Penduduk Desa Kebagusan Kec. Gedongtataan Kab. Pesawaran terhadap Limbah Cair di PTPN VII Way Berulu. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Terapan (Vol. 1)*, 131–135.
- 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. *CIWAL (Jurnal Ilmu Pertanian dan Lingkungan)*, 1(1), 9–17.
- Rahmawati, A. R., Ulkhaq, M. F., Susanti, D., Kenconoajati, H., & Fasya, A. H.

(2021). Identification of *Aeromonas Salmonicida* and *Edwardsiella ictaluri* in Live Fish that Will Be Trafficked from Yogyakarta Special Region. *Journal of Marine and Coastal Science*, 10(2), 68. <https://doi.org/10.20473/jmcs.v10i2.27658>

Rusdiansyah, A. I. (2018). *Kumpulan Esai Inovatif*. GUEPEDIA.

Sitorus, E., Sutrisno, E., Armus, R., Gurning, K., Fatma, F., Parinduri, L., & Priastomo, Y. (2021). *Proses Pengolahan Limbah*. Yayasan Kita Menulis.