

**ISOLASI DAN UJI BAKTERI LIPOLITIK DALAM
MENDEGRADASI MINYAK PADA LIMBAH CAIR KELAPA
SAWIT DI KEBUN MARIHAT, PEMATANG SIANTAR**

SKRIPSI

Oleh :

**CHAIRUNNISA
138700034**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS BIOLOGI
UNIVERSITAS MEDAN AREA
MEDAN
2018**

UNIVERSITAS MEDAN AREA

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area

Document Accepted 12/12/19

Access From (repository.uma.ac.id)

**ISOLASI DAN UJI BAKTERI LIPOLITIK DALAM
MENDEGRADASI MINYAK PADA LIMBAH CAIR KELAPA
SAWIT, DI KEBUN MARIHAT PEMATANG SIANTAR**

SKRIPSI

Oleh :

**CHAIRUNNISA
138700034**

Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mendapatkan
Gelar Sarjana di Fakultas Biologi
Universitas Medan Area

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS BIOLOGI
UNIVERSITAS MEDAN AREA
MEDAN
2018**

UNIVERSITAS MEDAN AREA

© Hak Cipta Di Lindungi Undang-Undang

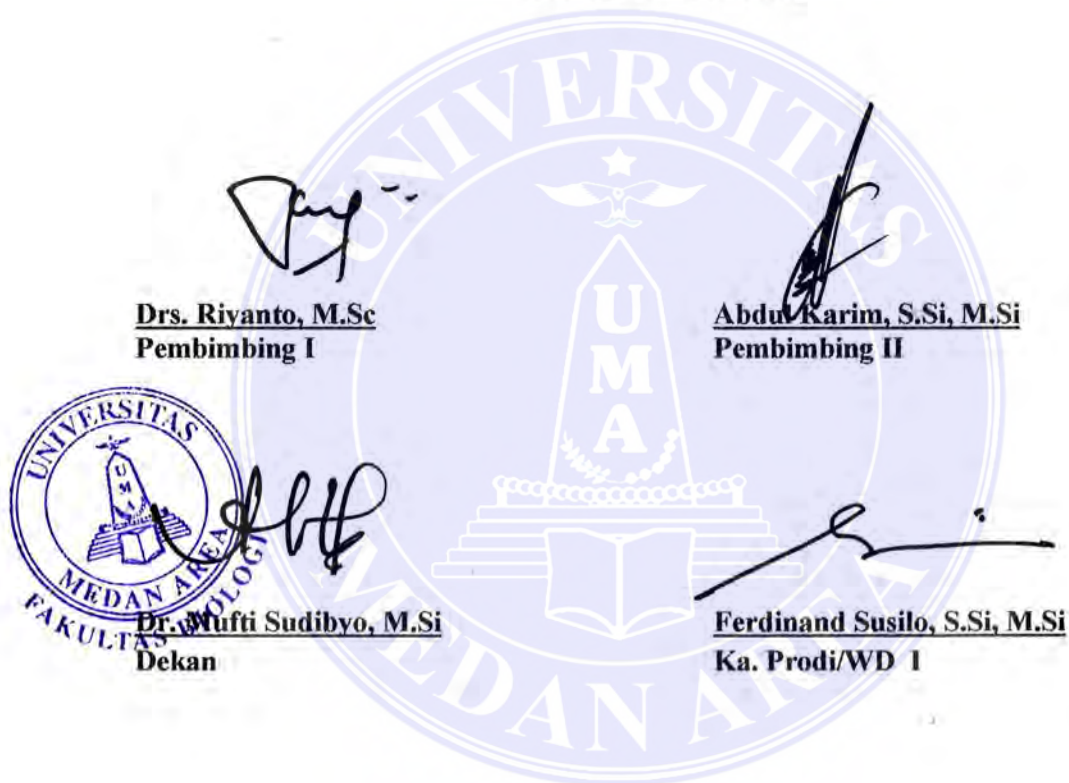
1. Dilarang Mengutip sebagian atau seluruh dokumen ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh karya ini dalam bentuk apapun tanpa izin Universitas Medan Area

Document Accepted 12/12/19

Access From (repository.uma.ac.id)

Judul Skripsi : Isolasi dan Uji Bakteri Lipolitik dalam Mendegradasi Minyak Pada Limbah Cair Kelapa Sawit di Kebun Marihat, Pematang Siantar
Nama : Chairunnisa
NPM : 13.870.0034
Fakultas : Biologi

**Disetujui Oleh
Komisi Pembimbing**



Tanggal lulus : 22 September 2018

LEMBAR PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi yang saya susun, sebagai syarat memperoleh gelar sarjana merupakan hasil karya tulis saya sendiri. Adapun bagian-bagian tertentu dalam tulisan skripsi ini saya kutip dari hasil karya orang lain telah ditulis sumbernya secara jelas sesuai norma, kaidah dan etika penulis ilmiah.

Saya bersedia menerima sanksi pencabutan gelar akademi yang saya peroleh dan sanksi-sanksi lainnya dengan peraturan yang berlaku apabila di kemudian hari ditemukan plagiat dalam skripsi ini.

Medan, 22 September 2018



Chairunnisa
13.870.0034

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademi Universitas Medan Area saya yang bertanda tangan dibawah ini :

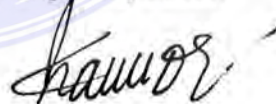
Nama : Chairunnisa
NPM : 14.870.0034
Program Studi : Biologi
Fakultas : Biologi
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Medan Area Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-Eksklusif Royalti-Free Right*) atas karya ilmiah yang berjudul : Isolasi dan Uji Bakteri Lipolitik Dalam Mendegradasi Minyak Pada Limbah Cair Kelapa Sawit Di Kebun Marihat, Pematang Siantar beserta perangkat yang ada jika diperlukan.

Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Medan Area berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Medan
Pada tanggal : 22 September 2018
Yang menyatakan

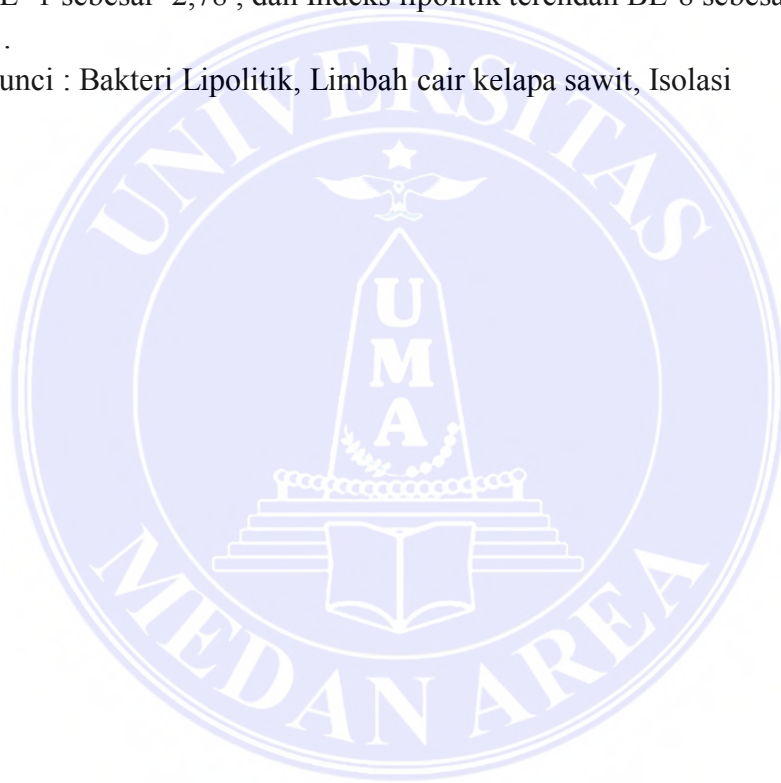


(Chairunnisa)

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian isolasi dan uji bakteri lipolitik dalam mendegradasi minyak pada limbah cair kelapa sawit di kebun Marihat Pematang Siantar. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioproses, Pusat Penelitian Kelapa Sawit Medan. Tujuan penelitian ini adalah untuk memperoleh isolat-isolat bakteri lipolitik dan mengetahui kemampuan bakteri lipolitik tersebut dalam mendegradasi minyak. Isolasi ini menggunakan media selektif agar lipolitik. Data analisa memperlihatkan bahwa terdapat 8 isolat bakteri lipolitik dalam limbah cair kelapa sawit dan berpotensi dalam mendegradasi minyak, yang ditunjukkan dengan nilai indeks aktivitas lipolitik isolat. Indeks lipolitik isolat terbesar dengan kode BL- 1 sebesar 2,78 , dan Indeks lipolitik terendah BL-8 sebesar 1,40.

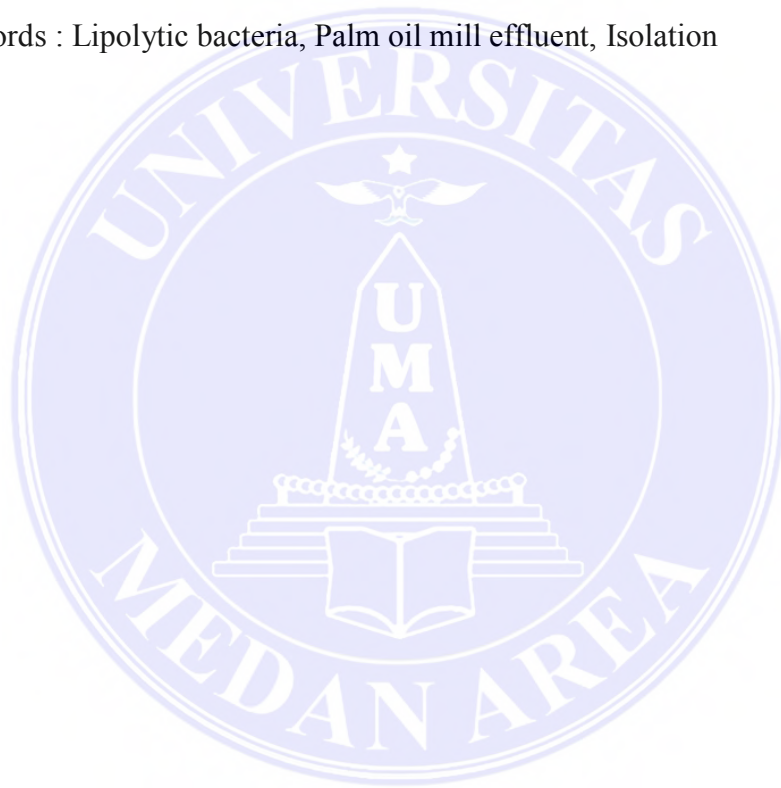
Kata Kunci : Bakteri Lipolitik, Limbah cair kelapa sawit, Isolasi



ABSTRACT

Research on isolation and testing of lipolytic bacteria in oli degradation of palm oil mill effluent (POME) at Marihat, Pematang Siantar. This research was conduteted at the Bioproses Laboratory, Palm Oil Research Institute, Medan. The purpose of this study was to obtain lipolytic bacterial isolates and determine the ability of these lipolytic bacteria to degrade oil. Isolation of bacteria using a selective medium lipolytic. Data of the analysis that were 8 isolates of lipolytic bacteria in pallm oil mill effluent and the potential to degrade oil with index activity of lipolytic isolates. The higgest lipolityc isolate index with code BL-1 is 2,78, and the lowest lipolytic index BL-8 is 1,40.

Key words : Lipolytic bacteria, Palm oil mill effluent, Isolation



KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Kuasa atas segala karuniaNya sehingga skripsi ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian ini ialah Limbah dengan judul “Isolasi dan Uji Bakteri Lipolitik Dalam Mendegradasi Minyak Pada Limbah Cair Kelapa Sawit Di Kebun Marihat, Pematang Siantar”. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioproses, Kelti RTPL, Pusat Penelitian Kelapa Sawit Medan.

Terima kasih penulis sampaikan kepada semua pihak yang banyak membantu dalam menyelesaikan skripsi ini, terutama kepada bapak Dr. Mufti Sudibyo, M.Si selaku Dekan Fakultas Biologi Universitas Medan Area, pembimbing I bapak Drs. Riyanto M.Sc, pembimbing II bapak Abdul Karim S.Si, M.Si, dan sekretaris komisi pembimbing ibu Rahmiati, S.Si, M.Si. yang memberikan masukan dan saran yang sangat berguna dalam penulisan skripsi ini. Motivasi dari suami tercinta dan keluarga besar atas segala doa dan perhatiannya, teman-teman mahasiswa/i Fakultas Biologi Universitas Medan Area.

Penulis menyadari bahwa dalam skripsi ini masih terdapat kesalahan, oleh karena itu kritik dan saran yang sifatnya membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan penulisan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, kiranya skripsi ini dapat bermanfaat untuk pengembangan ilmu pengetahuan penulis dan pembaca, Amin.

Medan, 6 Agustus 2018
Penulis

Chairunnisa

DAFTAR ISI

Halaman

ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
RIWAYAT HIDUP	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Industri Kelapa Sawit	4
2.2. Limbah Industri Kelapa Sawit	6
2.3. Limbah Cair Industri Minyak Kelapa Sawit	7
2.4. Bakteri Lipolitik	10
2.5. Pengolahan Limbah Cair Kelapa Sawit	19
BAB III METODELOGI PENELITIAN	23
3.1. Waktu Dan Tempat	23
3.2. Alat Dan Bahan	23
3.2.1. Alat	23
3.2.2. Bahan	23
3.2.3. Sampel	23
3.3. Isolasi Bakteri Lipolitik	24
3.4. Pemurnian Bakteri	24
3.5. Menghitung Jumlah Bakteri	24
3.6. Pengukuran Indeks Bakteri Lipolitik	25
3.7. Uji Konsorsium dan Sinergisme Isolat	26
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	27
4.1. Hasil	27
4.1.1. Isolasi Dan Pemurnian Isolat	27
4.1.2. Indeks Lipolitik Isolat	29
4.1.3. Uji Sinergis Dan Konsorsium Isolat	30
4.2. Pembahasan	30

BAB V SIMPULAN DAN SARAN	35
5.1. Simpulan	35
5.2. Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	36



DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Jenis, potensi dan pemanfaatan limbah pabrik kelapa sawit	7
2. Baku mutu limbah cair pabrik kelapa sawit	10
3. Perbedaan gram positif dan gram negatif	15
4. Karakter morfologi makroskopis koloni isolat	27
5. Hasil perhitungan jumlah sel bakteri metode TPC	28
6. Indeks lipolitik isolat	29
7. Sinergisme antar isolat lipolitik	30



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Industri Minyak Kelapa Sawit	4
2. Bentuk- Bentuk Bakteri.....	12
3. Kurva Pertumbuhan Bakteri.....	13
4. Gambaran Morfologi Koloni Bakteri.....	14
5. Kolam Limbah	19
6. Koloni yang tumbuh dimedia selektif agar	27
7. Beberapa koloni tunggal hasil pemurnian dengan kode isolat BL-1, BL-2, BL-3, dan BL-4.....	28
8. Beberapa koloni tunggal hasil pemurnian dengan kode isolat BL-5, BL-6, BL-7, BL-8	28
9. Zona bening yang muncul pada media selektif lipolitik agar	29
10. Sinergisme Isolat	30

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Skema /Alur Penelitian.....	40
2. Foto limbah cair kelapa sawit.....	41
3. Prosedur Pembuatan Media.....	42
4. Gambar Alur Pengenceran Dalam Isolasi.....	43
5. Foto Isolat Murni.....	44
6. Foto Konsorsium dan Sinergisme Antar Isolat.....	46



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara penghasil kelapa sawit dan mempunyai potensi yang cukup besar untuk pengembangan industri kelapa sawit. Luas areal perkebunan sawit terus mengalami peningkatan. Hal ini menyebabkan produksi minyak sawit mentah juga meningkat (Latief, 1991). Perkembangan industri kelapa sawit yang tumbuh cukup pesat ini mempunyai dampak positif dan negatif bagi masyarakat. Dampak positifnya adalah meningkatkan devisa bagi negara dan kesejahteraan masyarakat meningkat, sedangkan dampak negatifnya adalah menimbulkan limbah yang dapat mencemari lingkungan apabila tidak dikelola dengan baik.

Pengembangan industri kelapa sawit yang diikuti dengan pembangunan pabrik dapat menimbulkan dampak negatif pada lingkungan, baik terhadap kualitas sumber daya alam (berupa pencemaran) maupun lingkungan hidup. Hal tersebut disebabkan oleh jumlah limbah pabrik kelapa sawit (PKS) yang harus dibuang semakin bertambah. Limbah pada dasarnya adalah suatu bahan yang terbuang atau dibuang yang dihasilkan dari suatu proses produksi yang belum atau tidak memiliki nilai ekonomi.

Limbah industri kebanyakan menghasilkan limbah yang bersifat cair atau padat yang masih kaya zat organik yang telah mengalami peruraian, kebanyakan industri yang ada membuang limbahnya ke perairan terbuka, sehingga dalam waktu relatif singkat akan terjadi bau busuk sebagai akibat terjadinya fermentasi limbah.

Sebagai pengusaha industri yang akan membuang limbah diwajibkan mengolah limbahnya terlebih dahulu untuk mencegah pencemaran lingkungan hidup.

Pada umumnya limbah cair kelapa sawit diolah secara fisika, kimia dan biologi, namun pengolahan tersebut memerlukan waktu yang cukup lama. Tanpa pengolahan yang baik perkembangan industri kelapa sawit yang pesat akan berakibat meningkatkan beban limbah yang diterima oleh lingkungan. Kandungan limbah yang dihasilkan didominasi oleh senyawa organik, meskipun ditemukan juga bahan anorganik. Hal ini ditunjukkan oleh konsentrasi BOD dalam limbah yang tinggi. Maka pemanfaatan mikroba pengurai dalam pengolahan limbah cair kelapa sawit merupakan pertimbangan yang tepat.

Salah satu mikroba pengurai dalam pengolahan limbah cair kelapa sawit yaitu bakteri lipolitik. Bakteri lipolitik adalah salah satu jenis mikroorganisme yang mengandung enzim lipase yang dapat mendegradasi minyak atau lemak. Minyak atau lemak adalah senyawa organik yang bersifat non polar dan merupakan senyawa ester dari triasiliserol (Lehninger, 1995).

Minyak atau lemak terdapat pada limbah cair pabrik kelapa sawit. Biasanya minyak atau lemak yang terdapat di permukaan air dapat menghambat masuknya cahaya matahari ke dalam air, lingkungan menjadi aerob, dan menghambat proses biologis dalam air. Enzim lipase yang terdapat dalam bakteri lipolitik dapat membantu menguraikan bahan organik berupa minyak secara cepat melalui pemutusan ikatan ester dari triasiliserol menjadi asam lemak dan gliserol yang larut dalam air (Nurhasanah & Dian, 2008).

Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan isolat-isolat bakteri lipolitik yang akan berperan dalam mendegradasi lemak atau minyak pada limbah cair pabrik kelapa sawit secara cepat.

1.2 Perumusan masalah

Berdasarkan latar belakang masalah tersebut maka rumusan masalah dari penelitian ini, yaitu : Apakah terdapat bakteri lipolitik dalam limbah cair kelapa sawit di Kebun Marihat, Pusat Penelitian Kelapa Sawit dan bagaimana kemampuannya dalam mendegradasi minyak.

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh isolat bakteri lipolitik dan mengetahui kemampuan bakteri lipolitik dalam mendegradasi minyak.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan solusi bagi penanganan limbah kelapa sawit yang ramah lingkungan guna mendukung industri kelapa sawit yang lestari.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Industri Kelapa Sawit

Industri minyak kelapa sawit merupakan salah satu industri strategis, karena berhubungan dengan sektor pertanian (*agro-based industry*) yang banyak berkembang di negara-negara tropis seperti Indonesia, Malaysia dan Thailand. Hasil industri minyak kelapa sawit bukan hanya minyak goreng saja, tetapi juga bisa digunakan sebagai bahan dasar industri lainnya seperti industri makanan, kosmetika, dan sabun. Prospek perkembangan industri minyak kelapa sawit saat ini berkembang pesat, dimana terjadi peningkatan jumlah produksi kelapa sawit seiring meningkatnya kebutuhan masyarakat (Departemen Perindustrian, 2007).



Gambar 1. Industri minyak kelapa sawit
Sumber : Rukayya, 2013

Indonesia merupakan penghasil komoditas kelapa sawit terbesar di dunia, yakni sekitar 25 juta ton per-tahun, memiliki potensi industri kelapa sawit yang kian prospektif. Hal ini tampak dari jumlah permintaan kelapa sawit yang terus meningkat seiring dengan peningkatan populasi penduduk di dunia (Kae Sinaga, 2014).

Secara garis besar diagram alir proses pengolahan kelapa sawit adalah sebagai berikut :

1. Perebusan

Tandan buah segar setelah ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam lori rebusan yang terbuat dari plat baja berlubang-lubang dan langsung dimasukkan kedalam *sterilizer* yaitu bejana perebusan yang menggunakan uap air yang bertekanan antara 2.2 – 3.0 kg/cm². Proses perebusan ini dimaksudkan untuk mematikan enzim-enzim yang dapat menurunkan kualitas minyak dan agar buah mudah lepas dari tandannya serta memudahkan cangkang dan inti dengan keluarnya air dari biji (Departemen pertanian, 2006).

2. Perontokan buah dari tandan

Pada tahapan ini buah yang masih melekat tandannya akan dipisahkan dengan menggunakan prinsip bantingan sehingga buah tersebut terlepas kemudian ditampung dan dibawa oleh *fit conveyor* ke *digester* yang bertujuan untuk memisahkan brondolan dari tangkai tandan dan menghasilkan limbah tandan kosong (Departemen pertanian, 2006).

3. Pengolahan minyak dari daging buah

Pada tandan buah dilakukan pengadukan didalam digester yang menggunakan uap air dengan temperatur dijaga 80 - 90 °C dan kemudian dimasukkan ke dalam alat pengepresan (*srew press*) agar minyak keluar dari biji dan fiber. Dari proses pengepresan ini didapat minyak kasar dan ampas serta biji. Kemudian minyak disimpan di dalam *crude oil tank* yang selanjutnya akan dimurnikan (Departemen pertanian, 2006).

4. Proses pemurnian minyak

Minyak dari *oil tank* kemudian dialirkan kedalam *oil purifer* untuk memisahkan kotoran/solid yang mengandung kadar air. Selanjutnya dialirkan ke *vacuum drier* untuk memisahkan air sampai pada batas standar. Kemudian melalui *sarvo balance* maka minyak sawit dipompakan ke dalam tangki timbun (Departemen Pertanian, 2006).

2.2 Limbah Industri Kelapa Sawit

Limbah adalah kotoran atau buangan yang merupakan komponen pencemaran yang terdiri dari zat atau bahan yang tidak mempunyai kegunaan lagi bagi masyarakat. Limbah merupakan sampah dari suatu lingkungan masyarakat dan terutama terdiri dari air yang telah dipergunakan dengan hampir 0,1 % daripadanya terdiri dari benda-benda yang berupa bahan organik. Peningkatan luas pekebunan kelapa sawit telah mendorong tumbuhnya industri-industri pengolahan, diantaranya pabrik minyak kelapa sawit yang menghasilkan *crude palm oil* (CPO). Pabrik minyak kelapa sawit merupakan industri yang sarat dengan residu pengolahan. Pabrik minyak kelapa sawit hanya menghasilkan 25 – 30 % produk utama berupa 20 – 23 % CPO dan 5 – 7 % inti sawit. Sementara sisanya sebagai residu hasil pengolahan limbah (William, 2011).

Limbah perkebunan kelapa sawit adalah limbah yang dihasilkan dari sisa tanaman yang tertinggal pada saat pembukaan areal perkebunan, peremajaan dan panen kelapa sawit. Limbah ini digolongkan dalam tiga jenis yaitu limbah padat, limbah cair dan limbah gas (Kurniati, 2008).

a. Limbah Padat

Salah satu jenis limbah padat industri kelapa sawit adalah tandan kosong kelapa sawit. Limbah padat mempunyai ciri khas pada komposisinya.

b. Limbah Cair

Limbah ini bersal dari kondensat, stasiun klarifikais dan dari hidrosilikon. Lumpur (*sludge*) disebut juga lumpur primer yang berasal dari proses klarifikasi merupakan salah satu limbah cair yang dihasilkan dalam proses pengolahan minyak kelapa sawit, sedangkan lumpur yang telah mengalami proses *sedimentasi* disebut lumpur sekunder. Kandungan bahan organik lumpur juga tinggi yaitu pH berkisar 3-5.

c. Limbah Gas

Selain limbah padat dan cair, industri pengolahan kelapa sawit juga menghasilkan limbah bahan gas. Limbah bahan gas ini antara lain gas cerobong dan uap air buangan pabrik kelapa sawit.

Secara garis besar limbah-limbah yang dihasilkan oleh kelapa sawit memiliki potensi dan manfaat seperti yang tertera pada tabel 1 berikut.

Tabel 1. Jenis, potensi dan pemanfaatan limbah pabrik kelapa sawit

Jenis	Potensi per ton TBS (%)	Manfaat
Tandan kosong	23	Pupuk kompos, pulp kertas papan partikel energy
Cangkang	6,5	Arang, Karbon aktif, papan partikel
Serabut	13	Energi, pulp kertas, papan partikel
Limbah cair	50	Pupuk, air irigasi
Air Kondensat	Air umpan boiler	

Sumber : Direktorat Pengolahan Hasil Pertanian (2006)

2.3 Limbah Cair Industri Minyak Kelapa sawit

Limbah cair industri minyak kelapa sawit atau yang lebih dikenal dengan istilah *Palm Oil Mill Effluent* (POME) berasal dari unit proses pengukusan (sterilisasi), proses klarifikasi dan buangan dari hidrosiklon. Air limbah industri minyak kelapa sawit mengandung bahan organik yang sangat tinggi, sehingga kadar bahan pencemaran akan semakin tinggi (Kardila, 2011).

Pada proses pengolahan kelapa sawit menjadi CPO, selain menghasilkan minyak sawit tetapi juga menghasilkan limbah cair, dimana air limbah tersebut berasal dari :

- a. Hasil kondensasi uap air pada unit pelumatan (digester) dan unit pengempaan (pressure). Injeksi uap air pada unit pelumatan bertujuan mempermudah pengupasan daging buah, sedangkan injeksi uap bertujuan mempermudah pemerasan minyak. Hasil kondensasi uap air pada kedua unit tersebut dikeluarkan dari unit pengempaan I (Kae sinaga, 2014).
- b. Kondensat dari *depericarper*, yaitu untuk memisahkan sisa minyak yang terikut bersama batok/cangkang (Kae sinaga, 2014).
- c. Hasil kondensasi uap air pada unit penampung biji/inti. Injeksi uap kedalam unit penampung biji bertujuan memisahkan sisa minyak dan mempermudah pemecahan batok maupun inti pada unit pemecah biji (Kae sinaga, 2014).
- d. Kondensasi uap air yang berada pada unit penampung atau penyimpanan inti (Kae sinaga, 2014).
- e. Penambahan air pada hidrosiklon yang bertujuan mempermudah pemisahan serat dari cangkang (Kae sinaga, 2014).

f. Penambahan air panas dari saringan getar, yaitu untuk memisahkan sisa minyak dari ampas (Kae sinaga, 2014).

Air limbah industri minyak kelapa sawit mengandung bahan organik yang sangat tinggi yaitu BOD 25.500 mg/l, dan COD 48.000 mg/l sehingga kadar bahan pencemaran diperlukan degradasi bahan organik. Secara umum dampak yang ditimbulkan oleh air limbah industri kelapa sawit adalah tercemarnya badan air penerima yang umumnya sungai karena hampir setiap industri minyak kelapa sawit berlokasi didekat sungai. Air limbah industri kelapa sawit bila dibiarkan tanpa diolah lebih lanjut akan terbentuk ammonia, hal ini disebabkan bahan organik yang terkandung dalam limbah cair tersebut terurai dan membentuk ammonia. Terbentuk ammonia ini akan mempengaruhi kehidupan biota air dan dapat menimbulkan bau busuk (Azwir, 2006).

Air limbah dari pabrik minyak kelapa sawit ini umumnya bersuhu tinggi yaitu 70 - 80 °C berwarna kecoklatan, mengandung padatan terlarut dan tersuspensi berupa koloid dan residu minyak dengan BOD (*biological oxygen demand*) dan COD (*chemical oxygen demand*) yang tinggi. Apabila air limbah ini langsung dibuang ke perairan dapat mencemari lingkungan. Jika limbah tersebut langsung dibuang, maka sebagian akan mengendap, terurai secara perlahan, mengkonsumsi oksigen yang terlarut, menimbulkan kekeruhan, mengeluarkan bau yang tajam dan dapat merusak ekosistem perairan. Sebelum air limbah ini dapat dibuang ke lingkungan terlebih dahulu harus diolah agar sesuai dengan baku mutu limbah yang telah ditetapkan (Kae Sinaga, 2014).

Berdasarkan Peraturan Menteri Lingkungan RI No. 5 tahun 2014 tentang baku mutu air limbah, parameter limbah cair industri minyak sawit dapat dilihat pada tabel 2 berikut:

Tabel 2. Baku Mutu Limbah Cair Pabrik Kelapa Sawit

Parameter	Kadar Paling Tinggi (mg/L)	Beban Pencemaran Paling Tinggi (kg/ton)
BOD	100	0,25
COD	350	0,88
TSS	250	0,63
Minyak dan Lemak	25	0,063
Nitrogen Total	50	0,125
pH	6,0-9,0	
Debit limbah maksimal	25 m ² per ton CPO	

Sumber : Permen LH No. 5 Tahun 2014

Limbah cair kelapa sawit merupakan nutrien yang kaya akan senyawa organik dan karbon dekomposisi dari senyawa-senyawa organik oleh bakteri aerob dapat menghasilkan biogas. Jika gas-gas tersebut tidak dikelola dan dibiarkan lepas ke udara bebas maka dapat menjadi salah satu penyebab pemanasan global karena gas metan dan karbon dioksida yang dilepaskan adalah termasuk gas rumah kaca yang disebut-sebut sebagai sumber pemanasan global saat ini. Emisi gas metan 21 kali lebih berbahaya dari CO₂ dan metan merupakan salah satu penyumbang gas rumah kaca terbesar (Sumirat dan Solehudin, 2009).

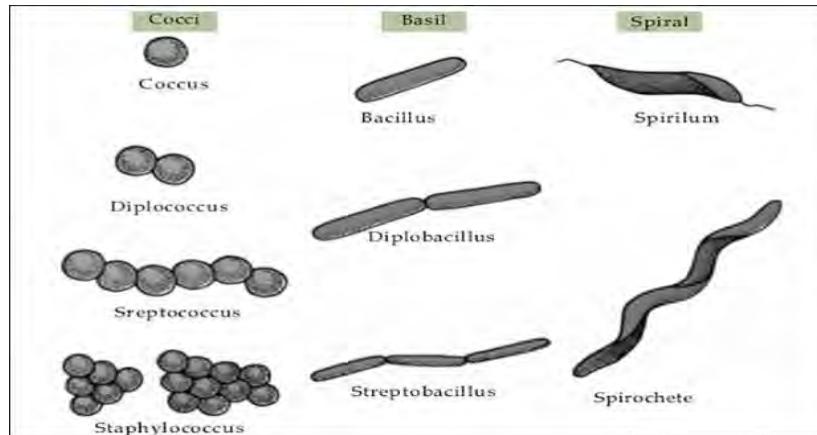
2.4 Bakteri Lipolitik

Bakteri merupakan kelompok makhluk hidup yang berukuran sangat kecil, yaitu bersel tunggal sehingga untuk melihatnya harus menggunakan bantuan mikroskop. Bakteri termasuk golongan mikroba (jasad renik). Penyebaran kehidupan bakteri di alam sangat luas yang dapat ditemukan di dalam tanah, air dan udara (Rialdi, 2016).

Nama bakteri berasal dari bahasa Yunani yaitu *Bakterion* yang berarti tongkat atau batang. Sekarang nama itu dipakai untuk menyebut sekelompok mikroorganisme bersel satu tubuhnya bersifat prokariotik, yaitu tubuhnya terdiri atas sel yang tidak mempunyai pembungkus inti (Rialdi, 2016).

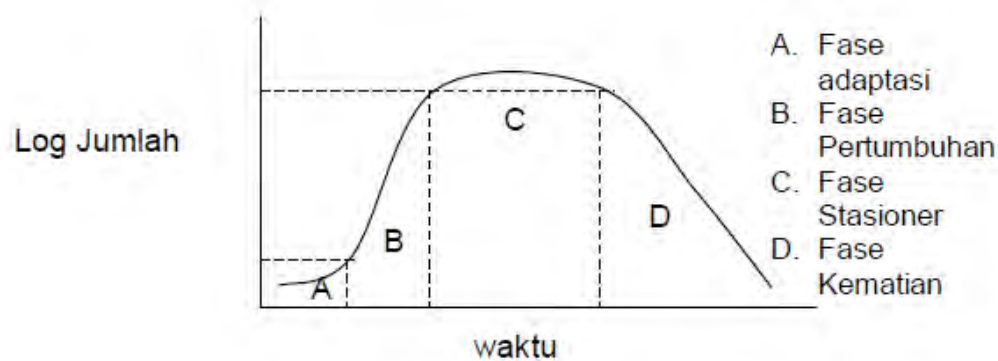
Ukuran bakteri sangat kecil, yaitu hanya 0.2 - 10 mikrometer. Bakteri memiliki peranan penting dalam kehidupan di bumi. Kehidupan makhluk hidup lain seperti hewan, tumbuhan dan manusia sangat bergantung pada bakteri. Bakteri berguna dalam mendegradasi atau merombak sampah dan jasad mati. Bakteri juga berguna untuk mengubah komponen-komponen organik menjadi anorganik agar dapat diserap oleh tumbuhan (Hartono, 2015).

Bakteri mempunyai bentuk yang bermacam-macam. Bentuk bakteri yang paling dikenal adalah batang atau basil (tunggal : basilus), bulat atau cocci (tunggal : coccus), dan spiral atau spirila (tunggal : spirillum). Bakteri coccus ada yang tersusun sendiri (*monococcus*) atau berkelompok. Bentuk kelompok bakteri, yaitu bergandengan (*diplococcus*), untaian anggur (*staphylococcus*) dan tersusun delapan-delapan (*sarcina*). Bakteri *bacillus* ada yang berdiri sendiri (*monobacillus*), berpasangan (*diplobacillus*), dan membentuk rantai (*streptobacillus*). Bakteri spiral ada yang berbentuk koma (*vibrio*), spiral, dan spiroseta (*spirochete*), (Hartono, 2015).



Gambar 2 : Bentuk-Bentuk Bakteri
 Sumber : Negara, 2016

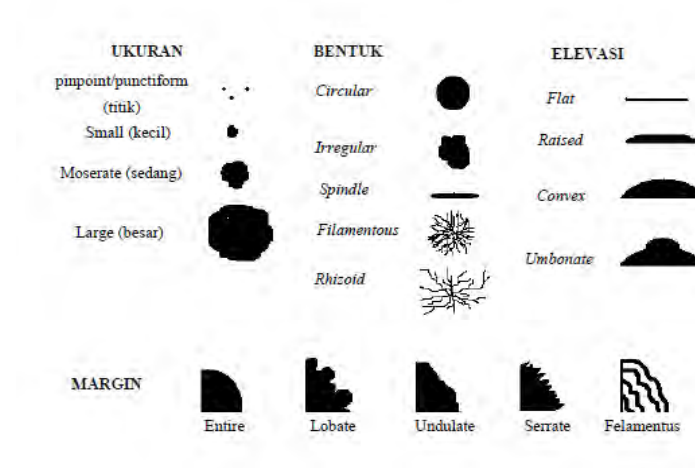
Perkembangan pertumbuhan bakteri dikelompokkan dalam beberapa fase. Pada fase pertama yaitu 1 sampai 2 jam setelah pemindahan, bakteri belum mengadakan pembiakan, fase ini disebut *fase adaptasi*. Kemudian fase kedua dimana jumlah bakteri mulai bertambah sedikit demi sedikit. Selanjutnya *fase pembiakan cepat (fase logaritma)*, di mana pembiakan bakteri paling cepat. Jika ingin mengadakan piaraan yang cepat tumbuh, maka bakteri di dalam fase ini baik sekali untuk dijadikan inokulum. Kemudian *fase pembiakan diperlambat*, ini disebabkan oleh keadaan medium memburuk, perubahan pH, bertimbun-timbunnya zat kotoran, kecepatan berkembang biak menjadi berkurang sekali. Kemudian fase dimana yang berkembang biak sama dengan jumlah bakteri yang mati, sehingga kurva penunjukkan garis yang hampir horizontal, disebut *fase konstan*. Fase terakhir yaitu fase dimana jumlah bakteri yang semakin banyak dan semakin melebihi jumlah bakteri yang membelah diri, grafiknya mulai menurun, fase ini disebut *fase kematian*. Keadaan ini dapat berlangsung beberapa minggu, hal ini bergantung pada spesies dan keadaan medium (Dwidjoseputro, 1987) .



Gambar 3. Kurva pertumbuhan bakteri
 Sumber : Wiguna, 2015

Identifikasi bakteri yang tumbuh pada media kultur dimulai dengan mengamati karakteristik koloni bakteri. Hal ini penting karena dari karakteristik koloni tersebut kita bisa menentukan prosedur atau pemeriksaan selanjutnya untuk identifikasi bakteri yang pasti. Identifikasi terhadap karakteristik koloni bakteri dilakukan secara visual langsung terhadap pertumbuhan bakteri pada permukaan agar. Beberapa hal yang bisa dijadikan sebagai acuan untuk menentukan karakteristik sebuah koloni bakteri, yaitu :

- a. Ukuran (biasanya dalam milimeter atau ukuran relatif seperti kecil, sedang, besar).
- b. Warna/pigmentasi.
- c. Bentuk.
- d. Elevasi (datar, meninggi, konveks, umblikasi).
- e. Batas (tegas, irreguler).
- f. Densitas (opak, translusen, transparan).
- g. Perubahan pada media (misalnya perubahan pH indikator).



Gambar 4. Gambaran morfologi koloni bakteri
 Sumber : Anonim, 2016

Pengamatan morfologi sel bakteri secara mikroskopis dilakukan dengan bantuan pewarnaan Gram. Uji pewarnaan Gram termasuk dalam pewarnaan differensial yang membutuhkan paling sedikit tiga reagen kimia yang digunakan secara beruntun pada ulasan yang difiksasi menggunakan panas. Pewarnaan bertujuan untuk membedakan bakteri kedalam kelompok Gram Negatif dan Gram positif. Berdasarkan bentuk dan efek pewarnaan Gram, bakteri dikelompokkan menjadi kokus Gram-positif, kokus Gram-negatif, batang Gram-positif, dan batang Gram-negatif. Morfologi sel bakteri secara mikroskopis dapat membantu untuk identifikasi bakteri (Pelczar, 2007).

Perbedaan bakteri Gram positif dan Gram negatif dapat dilihat pada tabel 3 berikut ini :

Tabel 3. Perbedaan Gram positif dan Gram Negatif

Ciri	Perbedaan Relatif	
	Gram Positif	Gram Negatif
Struktur dinding sel	Tebal (15-88nm) berlapis tunggal (mono)	Tipis (10-15nm) berlapis tiga (multi)
Komposisi dinding sel	Kandungan lipid rendah (1-4)% Pleptiglodikan ada sebagai lapisan tunggal komponen utama, merupakan lebih dari 50 % berat kering pada sel bakteri	Kandungan lipid tinggi (11-25)% Pleptiglodikan ada di lapisan kaku sebelah dalam, jumlahnya sedikit sekitar 10% berat kering pada sel bakteri
Kerentanan Terhadap Penisilin	Ada asam tekonat Lebih rentan	Tidak ada asam tekonat Kurang rentan
Pertumbuhan dihambat oleh zat-zat warna	Pertumbuhan dihambat dengan nyata	Pertumbuhan tidak begitu dihambat
Persyaratan nutrisi	Relatif rumit pada banyak spesies	Relatif sederhana
Resistensi terhadap gangguan fisik	Lebih resisten	Kurang resisten

Sumber: Pelczar, 2007

Bakteri lipolitik merupakan bakteri yang membutuhkan konsentrasi lemak minimal tertentu untuk pertumbuhannya. Kelompok bakteri lipolitik memproduksi lipase, yaitu enzim yang mengkatalis hidrolisis lemak menjadi asam-asam lemak dan gliserol. Banyak bakteri yang bersifat aerobik dan proteolitik aktif juga bersifat lipolitik. Jenis yang mempunyai spesies bersifat lipolitik misalnya *Pseudomonas*, *Alcaligenesis*, *Serratia* dan *Micrococcus*. Salah satu contoh yang bersifat lipolitik kuat misalnya *P. Fluorescens* (Fardiaz, 1992).

Sifat-sifat lipolitik adalah sebagai berikut :

- Temperatur optimum : 35⁰C, pada suhu 50⁰C enzim sebagian besar sudah rusak.

- pH optimum : 4,7 – 5,0
- Berat molekul : 45.000 – 50.000
- Dapat bekerja secara aerob maupun anaerob.

Enzim atau ferment adalah suatu protein yang berfungsi sebagai biokatalisator reaksi-reaksi biokimia pada makhluk biologi. Zat-zat yang diuraikan oleh reaksi disebut substrat, dan yang baru terbentuk dari reaksi disebut produk. Spesifisitas enzim sangat tinggi terhadap substratnya, dan enzim mempercepat reaksi kimia spesifik tanpa pembentukan produk samping. Enzim ini bekerja dalam cairan larutan encer, suhu, dan pH yang sesuai dengan kondisi fisiologis biologis. Melalui aktivitasnya, sistem enzim terkoordinasi dengan baik sehingga menghasilkan hubungan harmonis di antara sejumlah aktivitas metabolik yang berbeda, semuanya mengacu untuk menunjang kehidupan. Enzim merupakan suatu protein, maka sintesisnya dalam tubuh diatur dan dikendalikan oleh sistem genetik, seperti halnya sintesis protein pada umumnya (Panil, 2004).

Enzim disebut juga biokatalisator, merupakan suatu senyawa protein yang memiliki kemampuan mengkatalisis. Suatu katalisator, seperti enzim, berfungsi meningkatkan kecepatan laju reaksi kimia, tetapi ia tidak ikut bereaksi. Setiap sel di dalam tubuh makhluk hidup telah dilengkapi dengan berbagai jenis enzim. Sebagai katalisator organik, enzim berbeda dengan katalisator anorganik karena enzim bersifat spesifik. Artinya, suatu jenis enzim hanya dapat mengatalisis satu jenis reaksi kimia. Dengan demikian, meskipun terdapat ribuan enzim di dalam tubuh makhluk hidup, tidak akan pernah terjadi suatu reaksi dikatalisis oleh enzim yang salah (Pujiyanti, 2008).

Triasil Gliserol Hidrolase atau lipase merupakan suatu asil hidrolase yang bersifat dapat larut dengan baik dalam air. Lipase memiliki peranan yang penting dalam pencernaan suatu senyawa lemak. Enzim ini mengkatalisis reaksi hidrolisis lemak dan minyak dengan cara memutuskan rantai panjang trigliserida pada lemak menjadi bentuk lipid polarnya. Enzim lipolitik ini juga mampu mengkatalisis berbagai macam reaksi, seperti hidrolisis, esterifikasi, alkoholisis, dan aminolisis. Lipase dapat diproduksi oleh berbagai jenis mikroba, seperti *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia narcescens*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*. Contoh reaksinya seperti berikut : $\text{Trigliserid} + 2\text{H}_2\text{O} + 2 \text{ Monogliserid} + 2 \text{ Asam lemak}$ (Montgomery, *et al*, 1993).

Lipase merupakan enzim yang dapat mendegradasi lemak atau minyak melalui pemutusan ikatan ester dari triasilgliserol menjadi asam lemak dan gliserol yang larut dalam air. Mikroorganisme penghasil lipase dapat ditemukan pada habitat yang mendukung seperti limbah industri, pabrik pengolahan minyak, dan tanah yang terkontaminasi minyak. Keberadaan mikroba ini dikaitkan dengan keberadaan enzim lipase yang dapat menghidrolisis minyak yang tidak larut dalam air menjadi produk yang larut dalam air. Pada umumnya, enzim bersifat tidak stabil dalam pelarut organik dan dapat terdenaturasi atau hilang aktifitas katalitiknya, tetapi lipase dapat stabil dan tetap aktif dalam suatu pelarut organik tanpa adanya penambahan senyawa penstabil. Jenis substrat dari lipase juga terkadang tidak dapat larut atau bersifat sedikit larut dalam media air karena itu, dalam fenomena seperti ini digunakan pelarut organik atau larutan organik sebagai media reaksi, karena lipase tetap memiliki kemampuan katalitiknya dalam pelarut organik, membuat lipase banyak diaplikasikan dibidang bioteknologi (Jaeger, *et al*, 1994).

Salah satu karakteristik utama dari lipase, yaitu enzim ini dapat bekerja pada lapisan antar muka karena adanya perbedaan kepolaran antara lipase dengan substrat yang dikatalisisnya. Lipase cenderung bersifat polar, sedangkan substratnya berupa senyawa non polar, sehingga lipase bekerja pada bagian antar muka antara fase yang larut dalam air dan fase minyak dari substratnya (Yapasan, 2008).

Aktivasi pada lapisan antar muka dari lipase ini akan meningkat ketika substrat yang tersedia berada dalam bentuk emulsinya. Sebagai akibat dari karakteristik ini, maka kinetika dari lipase tidak mengikuti aturan klasik model Michaelis-Menten (Jaeger, *et al*, 1994).

Substrat dan produk yang dihasilkan dari katalitik lipase ini terkadang bersifat tidak dapat larut dengan baik dalam media air. Hal ini membuat enzim dapat dengan mudah dipisahkan dari substrat dan produknya (Yapasan, 2008).

Lemak merupakan senyawa organik yang tidak larut dalam air tetapi larut dalam pelarut organik non polar seperti alkohol, aseton, eter, benzena, kloroform, dan sebagainya. Lemak tersusun atas rantai hidrokarbon panjang berantai lurus, bercabang atau membentuk struktur siklis. Lemak essensial merupakan prekursor pembentukan hormontertentu seperti prostagladin, lemak juga berperan sebagai penyusun membran yang sangat penting untuk berbagai tugas metabolisme (Setiadji, 2007).

2.5 Pengolahan Limbah Cair Kelapa Sawit

Teknik pengolahan air limbah adalah pengolahan limbah pabrik yang belum memenuhi persyaratan baku mutu limbah sehingga air yang keluar dari pabrik diharapkan memenuhi persyaratan sebagai air bersih. Pengolahan air limbah

industri minyak kelapa sawit yang lazim digunakan di industri-industri kelapa sawit di Indonesia adalah dengan menggunakan sistem kolam. Penggunaan sistem ini bertujuan untuk menanggulangi masalah limbah cair pada unit pengolahan limbah cair, pengolahan limbah cair buangan pabrik kelapa sawit yang menggunakan sistem kolam (*Ponding System*) secara umum membutuhkan lahan yang cukup luas untuk proses tahapan sehingga dapat menghasilkan limbah cair akhir yang sesuai dengan nilai baku mutu air limbah yang direkomendasikan (Meilian, 2013).



Gambar 5. Kolam limbah
Sumber : Rantawi dan Ahdiat, 2016

Berikut skema teknik pengolahan air limbah dengan menggunakan sistem kolam yang secara umum dilaksanakan oleh Pabrik Kelapa Sawit.

a. Fatpit

Limbah dari Pabrik Kelapa Sawit (PKS) dialirkan masuk kedalam *fat pit*. Kolam *fat pit* digunakan untuk menampung cairan – cairan yang berasal dari air kondensat dan stasiun klarifikasi. Pada *fat pit* ini terjadi pemanasan dengan menggunakan steam dari BPV. Pemanasan ini diperlukan untuk memudahkan pemisahan minyak dengan sludge sebab pada *fat pit* ini masih dimungkinkan untuk melakukan pengutipan minyak dengan menggunakan skimmer. Limbah dari *fat pit* ini

kemudian dialirkan ke kolam *cooling pond* yang berguna untuk mendinginkan limbah yang telah dipanaskan.

b. *Cooling Pond*

Selain untuk mendinginkan limbah, *cooling pond* juga berfungsi untuk mengendapkan sludge. Setelah dari *cooling pond* I limbah kemudian masuk ke *cooling pond* II untuk dilakukan proses pendinginan yang sama dengan *cooling pond* I. Limbah dari *cooling pond* II kemudian dialirkan ke kolam anaerobic 1,2,3.

c. Kolam *Anaerobic*

Pada kolam anaerobic ini terjadi perlakuan biologis terhadap limbah dengan menggunakan bakteri metagonik yang ada pada kolam. Unsur organik yang terdapat dalam limbah cair digunakan bakteri sebagai makanan dalam proses mengubahnya menjadi bahan yang tidak berbahaya bagi lingkungan. Pada kolam anaerobik terjadi penurunan BOD dan kenaikan pH minimal 6. Ketebalan scum pada kolam anaerobic tidak boleh > 25 cm, jika ketebalannya telah melebihi 25 cm maka itu merupakan tanda bahwa bakteri sudah kurang berfungsi.

d. *Maturity Pond*

Setelah dari kolam anaerobic, limbah masuk ke kolam *maturity pond* yang berfungsi untuk pematangan limbah (serta kenaikan pH dan penurunan BOD). Di *maturity pond* ini terdapat pompa yang berfungsi mensirkulasikan limbah kembali ke kolam *anaerobic* (ditunjukkan oleh garis putus-putus pada *flow process*). Kegunaan sirkulasi adalah untuk membantu menurunkan suhu dan menaikkan pH di kolam *anaerobic* 1,2,3.

e. Kolam Aplikasi

Setelah dari *maturity pond* limbah kemudian masuk ke kolam aplikasi yang merupakan tempat pembuangan akhir limbah. Limbah yang terdapat pada kolam aplikasi ini digunakan untuk pupuk tanaman kelapa sawit (*land application*).

Aplikasi limbah cair ke lapa sawit ke areal tanaman dapat dilakukan dengan metode *Flatbed* (perparitan), yaitu mengalirkan atau memompakan limbah cair dari instalasi pengolahan air limbah fakultatif ke dalam bak distribusi, dan secara gravitasi dialirkan melalui saluran parit penghubung hingga ke ujung saluran. Pembuatan pabrik dan teras yaitu dengan membangun konstruksi saluran diantara dua baris pohon yang dihubungkan dengan saluran parit, dan secara periodic lumpur yang tertinggal pada parit harus dikuras secara berkala agar aliran limbah cair dengan mudah dapat mengalir (Pulungan, 2017).

Pada prinsipnya konsep pembuangan limbah cair kelapa sawit ke areal perkebunan kelapa sawit seperti dijelaskan diatas adalah suatu metode pemanfaatan limbah cair yang dapat berfungsi sebagai pupuk sehingga dapat menghemat dalam pemupukan terhadap tanaman kelapa sawit, dari aspek ekonomis metode ini sangat menguntungkan tetapi tetap harus memperhatikan aspek kesehatan lingkungan dengan berpegang pada baku mutu sebelum dialirkan ke parit-parit di dalam kebun, tidak dibenarkan pembuangan atau mengalirkan tanpa memperhatikan ketentuan yang berlaku dalam pengelolaan limbah cair dari hasil produksi kelapa sawit. Pemanfaatan metode ini meliputi pengawasan terhadap pemakaian limbah di areal, agar diperoleh keuntungan dari segi agronomis dan tidak menimbulkan dampak yang merugikan (Pulungan, 2017).

Pemilihan teknik aplikasi yang sesuai untuk tanaman kelapa sawit sangat tergantung kepada kondisi maupun faktor berikut :

- a. Jenis dan volume limbah cair, topografi lahan yang akan dialiri.
- b. Jenis dan tanah kedalaman permukaan air tanah, umur tanaman kelapa sawit.
- c. Luas lahan yang tersedia dan jaraknya dari pabrik, dekat atau tidaknya dengan air sungai atau pemukiman penduduk.



BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2017 s/d April 2018 di Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS), Medan Sumatera Utara.

3.2 Alat dan bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, autoklaf digital, shaker waterbath, lemari pendingin, mikro pipet, mikroskop, laminar air flow, colony counter, vortex mixer, inkubator, cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer 500 mL, labu ukur 500 mL, gelas ukur 250 mL, spatula, batang pengaduk, pipet tetes, obyek glass, lampu spiritus, botol semprot, rak tabung reaksi, corong, batang L, mancis, hot plate, oven.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan yaitu limbah cair Pabrik Kelapa Sawit, aquades, spiritus, alkohol 70 %, media lipolitik agar, media lipolitik cair, kasa, kapas steril, aluminium foil, kertas pH dan tisu.

3.2.3 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah limbah cair kelapa sawit yang diambil dari kolam limbah Kebun Marihat, Pusat Penelitian Kelapa Sawit. Sampel diambil secara purposive sampling dengan 3 titik pada saluran keluar kolam. Sampel tersebut diambil dengan menggunakan botol steril dengan cara melepaskan tutup botol kemudian menenggelamkannya kedalam kolam limbah, setelah terisi penuh segera diangkat ke permukaan dan ditutup kembali. Beberapa

kriteria dan sampel yang diambil adalah berwarna coklat dan terlihat seperti adanya lapisan minyak di permukaan air limbah (Bestari dan Suharjono, 2015).

3.3 Isolasi Bakteri Lipolitik

Isolasi bakteri lipolitik dilakukan dengan menginokulasikan sampel pada media uji secara aseptis. Sampel diencerkan dengan seri pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-7} (Swandi, *dkk*, 2015).

Masing- masing pengenceran diinokulasikan kedalam media uji dengan metode cawan tuang. Bakteri yang berpotensi mendegradasi minyak ditandai dengan terbentuknya zona jernih disekitar koloni bakteri yang diinkubasi selama 48 jam.

3.4 Pemurnian Bakteri

Koloni dengan ciri berbeda (seperti warna, bentuk koloni, permukaan koloni) masing-masing dimurnikan dengan cara di-*streak* ke medium NA padat dalam cawan petri, lalu diinkubasi selama 2 x 24 jam. Teknik ini dilakukan secara berulang sampai diperoleh koloni yang diindikasikan murni. Jika belum memperoleh koloni yang murni, dilakukan kembali (ulangi), hingga mendapat koloni yang murni. Koloni murni adalah koloni yang bersasal dari satu sel saja. Koloni murni yang didapat diinokulasikan pada medium agar miring untuk mendapatkan isolat murni (Elyza, *dkk*, 2015).

3.5 Menghitung Jumlah Bakteri

Perhitungan jumlah bakteri dilakukan dengan metode TPC (*Total Plate Count*). Prinsip dari metode hitungan cawan atau *Total Plate Count* (TPC) adalah menumbuhkan sel mikroorganisme yang masih hidup pada media agar, sehingga

mikroorganisme akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dan dihitung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop.

Sebelum mikroorganisme ditumbuhkan dalam media, terlebih dahulu dilakukan pengenceran sampel menggunakan larutan fisiologis. Tujuan dari pengenceran sampel yaitu mengurangi jumlah kandungan mikroba dalam sampel sehingga nantinya dapat diamati dan diketahui jumlah mikroorganisme secara spesifik sehingga didapatkan perhitungan yang tepat. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Fardiaz (2001), yang menyatakan bahwa salah satu yang mempengaruhi perhitungan mikroba ialah pengenceran, dimana pengenceran yang terlalu tinggi menyebabkan koloni tidak muncul, sedangkan pengenceran yang terlalu rendah menyebabkan koloni muncul terlalu banyak. Pengenceran memudahkan dalam perhitungan koloni.

Uji aktivitas bakteri lipolitik dilakukan untuk mengetahui bakteri yang berpotensi paling kuat dalam menghidrolisis lemak. Koloni bakteri yang tumbuh menunjukkan zona jernih. Semakin besar zona jernih yang terbentuk maka bakteri tersebut memiliki potensi paling tinggi dalam mendegradasi minyak (Suarsini, 2006).

3.6 Pengukuran Aktifitas Indeks Lipolitik

Pengukuran aktivitas indeks bakteri lipolitik dilakukan untuk mengetahui potensi masing-masing isolat bakteri dalam mendegradasi lemak. Koloni yang tumbuh di media selektif agar dan membentuk zona jernih di sekitar koloni merupakan bakteri pendegradasi lemak. Diameter zona bening diukur 2 - 4 kali dengan memasukkan pengukuran diameter terendah dan terjauh (Oktavia dan Singgih, 2016).

DAFTAR PUSTAKA

- Azwir. (2006). *Analisa Pencemaran Air Sungai Tapung Kiri Oleh Limbah Industri Kelapa Sawit PT. Peputra Masterindo di Kabupaten Kampar*. Tesis, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Anonim. (2016). *Analisa Mikrobiologi untuk Bakteri dan fungi*. PintarBiologi.com <http://pintarbiologi.com/2016/02/praktikum-analisamikrobiologi-untuk-bakteri-fungi-html> (9 Agustus 2018).
- Asri, A. C., dan Enny, Z. (2016). *Sinergisme Antar Isolat Azotobacter Yang Dikonsorsiumkan*. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 5(2):E57-E59.
- Bala, J.D., Japareng, L. and Norli, I. (2014). *Biodegradation of Palm Oil Mill Effluent (POME) by Bacterial*. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 4(3):1-10.
- Bestari, N.C., dan Suharjono. (2015). *Uji Kualitatif dan Kuantitatif Isolat Bakteri Lipolitik Dari Limbah Cair Pabrik Pengolahan Ikan Kecamatan Mucor Banyuwangi*. *Jurnal Biotoprika*, 3(3): 151-155.
- Darmayasa, I.B.G. (2008). *Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Pendegradasi Lipid (Lemak) Pada Beberapa Tempat Pembuangan Limbah Dan Estuari DAM Denpasar*. *Jurnal Bumi Lestari*, 8(2): 122-127.
- Departemen Perindustrian. (2007). *Gambaran Sekilas Industri Minyak Kelapa Sawit*.
- Departemen Pertanian, Direktorat Jenderal Perkebunan. (2006). *Statistik Perkebunan Indonesia 2003-2005: Kelapa Sawit (Oil Palm)*. Jakarta : Sekretariat Direktorat Jenderal Perkebunan.
- Ditjen PPHP. (2006). *Pedoman Pengelolaan Limbah Industri Kelapa Sawit*. Subdit Pengelolaan Lingkungan Direktorat Pengolahan Hasil Pertanian. Departemen Pertanian, Jakarta.
- Dwidjoseputro, D. (1987). *Pengantar Mikologi*, Edisi Kedua. Bandung.
- Elyza, F., Nuni, G. dan Munawar. (2015). *Identifikasi dan Uji Potensi Bakteri Lipolitik Dari Limbah SBE (Spent Bleaching Earth) Sebagai Agen Bioremediasi*. *Jurnal Ilmu Lingkungan*, 13(1):12-18.
- Fardiaz, S., (2001). *Mikrobiologi Pangan I*. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Fardiaz, S., (1992). *Mikrobiologi Pangan*. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.

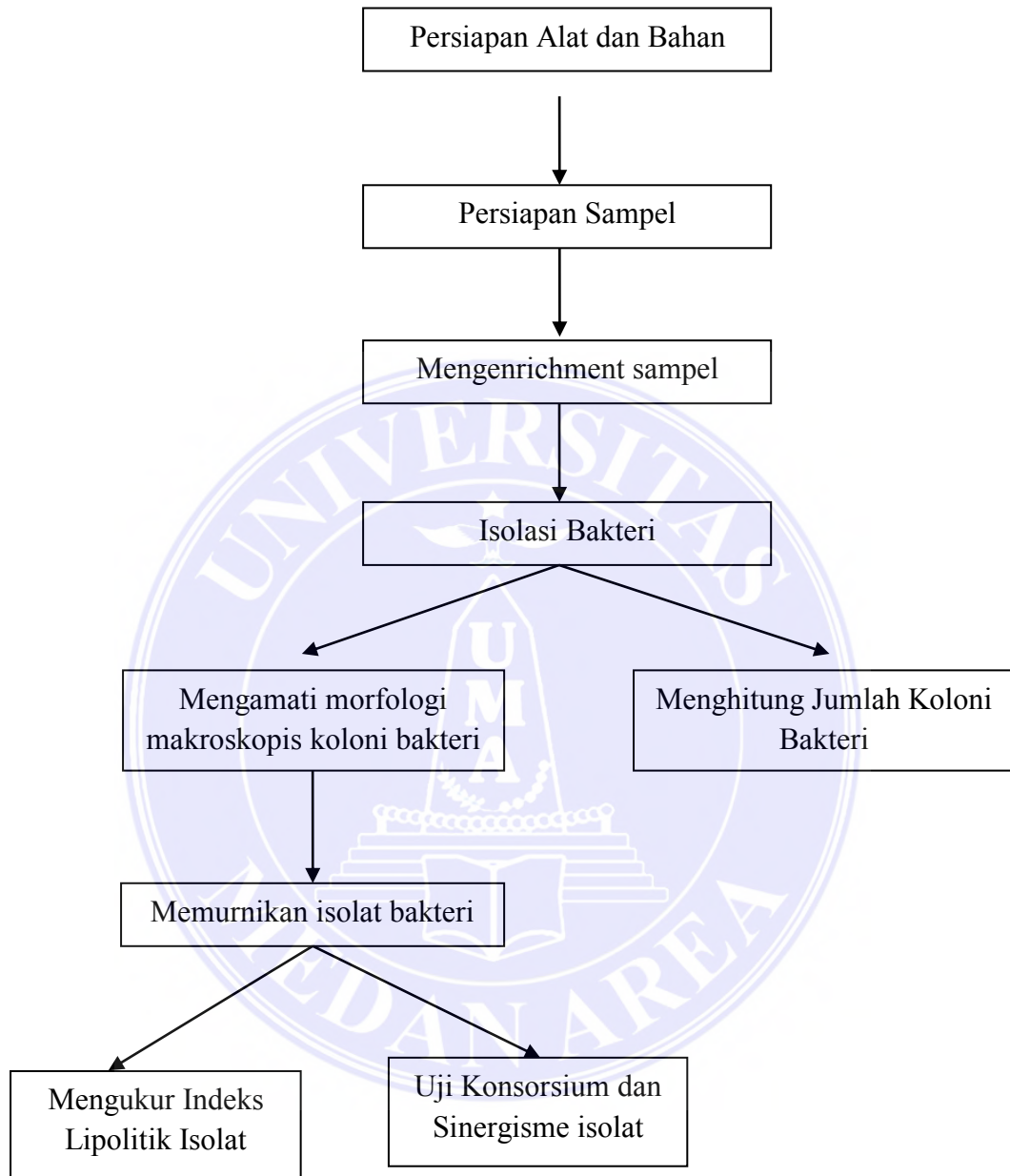
- Hartono, J. (2015). *Bentuk Bakteri & Ukuran Bakteri (Basil, Bulat, Spiral)*. Biomagz.com. www.biomagz.com/2015/11/bentuk-bakteri-ukuran-bakteri-basil-html. (9 Agustus 2018).
- Jaeger K.E., Dijkstra B.W., Reetz M.T., (1994). *Bacterial biocatalyst : molecular biology, three-dimensional structures, and biotechnology applications of lipase (review)- annu rev mikrobio*, 53:315-351.
- Kae Sinaga. (2014). <http://eprints.polsri.ac.id/879/3/BAB%20lipdf>. 7 Agustus 2018.
- Kardila, V. (2011). *Karakteristik Air Limbah Industri Minyak Kelapa Sawit*. Surabaya, Institut Teknologi Sepuluh November.
- Kurniati, Elly. (2008). *Pemanfaatan Cangkang Kelapa Sawit Sebagai Arang Aktif*. Jurnal Penelitian Ilmu Teknik, 8(2):96-103.
- Latief, S. (1991). *Analisis komposisi asam lemak minyak sawit yang dipercepat*. Berita Penelitian Perkebunan, 1 (1): 21-26.
- Lehninger, A.L. (1995). *Biochemistry Academic Press. Newyork*.
- Meilian. (2013). *Pengolahan Air Limbah Industri Minyak Kelapa Sawit*. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Mongomery, Rex. (1993). *Suatu Pendekatan Berorientasi Kasus*. Biokimia Jilid I.
- Negara, K.P. (2016). *Bentuk Bentuk Bakteri, Gambar, dan, Contoh-contohnya*. www.ebiologi.net/2016/07/bentuk-bentuk-bakteri-gambar-dan-contoh-html (9 Agustus 2018).
- Nurdini, A.L. (2010). *Penapisan Bakteri Lipolitik Asal Fruktofer Kelapa Sawit*. Skripsi Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Nurhasanah dan Dian H. (2008). *Pemurnian Enzim Lipase dari Bakteri Lokal dan Aplikasinya Dalam Reaksi Esterifikasi*. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi II. Universitas Lampung.
- Oktavia, D.A. dan Singgih W. (2016). *Penapisan dan Identifikasi Bakteri Lipolitik yang Diisolasi Dari Air Limbah Pengolahan Surimi dan Pengalengan Rajungan*. Jurnal Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, 11(2):147-158.
- Panil, Z. (2004). *Memahami Teori dan Praktek Biokimia Dasar Medis*. Jakarta. Buku Kedokteran EGC.
- Pelczar, M.J and Chan, E.C.S., (2007). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jilid I. Diterjemahkan oleh Hadioetomo, R.S., Imas. T., Tjetrosomo, S.S. & Angka, S L., Universitas Indonesia, Jakarta.

- Pujiyanti, Sri. (2007). *Menjelajah Dunia Biologi 3*, Jakarta : Platinum.
- Pulungan, A.S. (2017). *Analisis Pengelolaan Limbah Cair Kelapa Sawit*. Skripsi Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Rantawi, A.B., dan Ahdiat, L.S. (2016). *Penggunaan Kolam Limbah di Pabrik Minyak Kelapa Sawit*. <http://www.infosawit.com/news/4679/info-cwe-penggunaan-kolam-limbah-di-pabrik-minyak-kelapa-sawit>. 7 Agustus 2019
- Rialdi, M. (2016). *Apa Itu Bakteri?*. Kajian Pustaka.com. kajianpustaka.com (20 Agustus 2018).
- Rizky, M. Y., Rizka, D. F., Utami, S. H., dan Sitoesmi, P. (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):87-89.
- Rukayya. (2013). *Pabrik Minyak Kelapa Sawit Deli*. Kajian Aekeologi Sosial, Ekonomi, dan Budaya dalam Perindustrian. <http://ayyarukaburreu.wordpress.com/2013/5/22/pabrik-minyak-kelapa-sawit-deli-kajian-arkeologi-sosial-ekonomi-dan-budaya-dalam-perindustrian> (7 Agustus 2018).
- Seatiadji. (2007). *Kimia Organik*. Jember : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- Suharjono, dkk. (2011). *Pelatihan Mikrobiologi Isolasi Mikrobia Lipolitik, Proteolitik, Lignolitik dan Selulolitik dari Limbah Pabrik Kelapa Sawit*. Universitas Brawijaya, Malang.
- Suarsini, E. (2006). *Bioremediasi Limbah Cair Rumah Tangga menggunakan Konsorsia Bakteri Indigen yang berpotensi Pereduksi Polutan*. Disertasi Universitas Negeri Malang, Malang.
- Sumirat, U. dan Solehudin, A.(2009). *Nitrous Oksida (N₂O) dan Metana (CH₄) Sebagai Gas Rumah Kaca*. *Jurnal Pendidikan Indonesia*, 7(2), 24-98.
- Swandi, M. K., Periadnadi dan Nurmiati. (2015). *Isolasi Bakteri Pendegradasi Limbah Cair Industri Minyak Sawit*. *Jurnal Biologi Universitas Andalas* 4(1) : 71-76.
- William, Z. (2011). *Limbah Kelapa Sawit*. <http://williamzeva.blogspot.com/2011/01/limbah-kelapa-sawit-html> (8 agustus 2018).
- Wiguna, A. (2015). *Mikroorganisme*. Dunia Kimia. [Duniachemistry.blogspot.com/2015/05/mikroorganisme.html](http://duniachemistry.blogspot.com/2015/05/mikroorganisme.html) (9 Agustus 2018).

Yapasan, Ece. (2008). *Partial Purification and Characterization of Lipase Enzyme From A Pseudomonas Strain*. Thesis of Izmir Institute of Technology, Izmir.



Lampiran 1. Skema / Alur Penelitian



Lampiran 2. Foto sampel limbah cair kelapa sawit



Limbah cair kelapa sawit



Media lipolitik

Lampiran 3. Prosedur pembuatan media

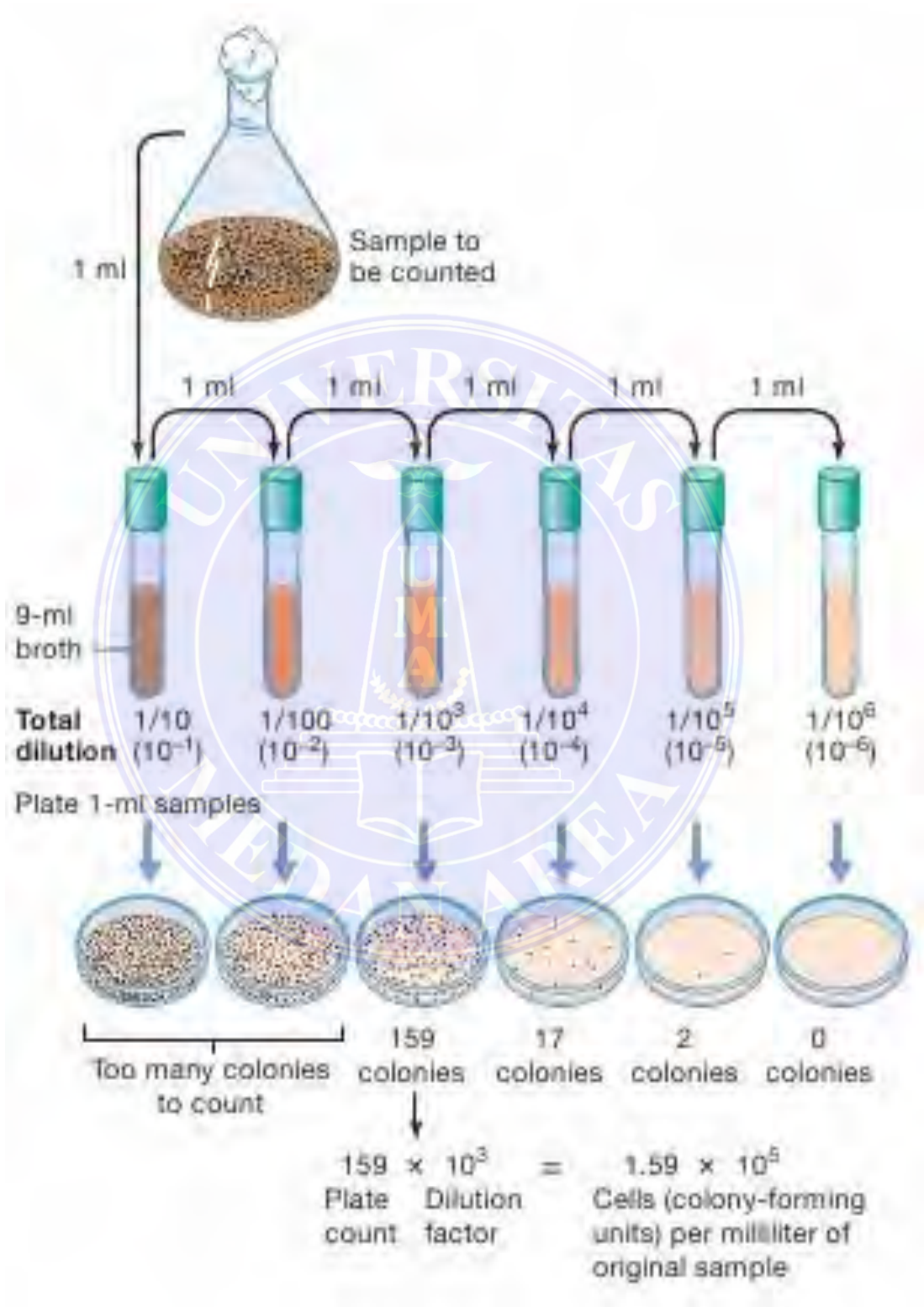
1. Pembuatan Media Selektif Lipolitik Agar

Media agar lipolitik digunakan untuk menumbuhkan bakteri pada cawan petri dengan komposisi per satu liter aquadest yaitu pepton 10 g, NaCl 5 g, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,1 g, agar 15 g, dan tween 80 % 10 ml. Kemudian campuran media dihomogenkan dengan vortex, lalu disterilisasi dalam autoclaf pada suhu 121°C dan tekanan 1,2 atm selama 15 menit. (Suharjono, *et al*, 2011).

2. Pembuatan Media Selektif Lipolitik Cair

Media cair lipolitik ini digunakan sebagai media produksi yaitu dengan komposisi per satu liter aquadest yaitu pepton 10 g, NaCl 5 g, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,1 g, dan tween 80 % 10 ml. Kemudian campuran media dihomogenkan dengan vortex, lalu disterilisasi dalam autoclaf pada suhu 121°C dan tekanan 1,2 atm selama 15 menit. (Suharjono, *et al*, 2011).

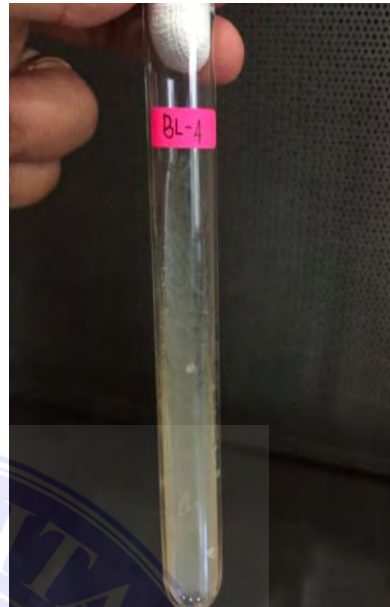
Lampiran 4. Gambar alur pengenceran dalam isolasi



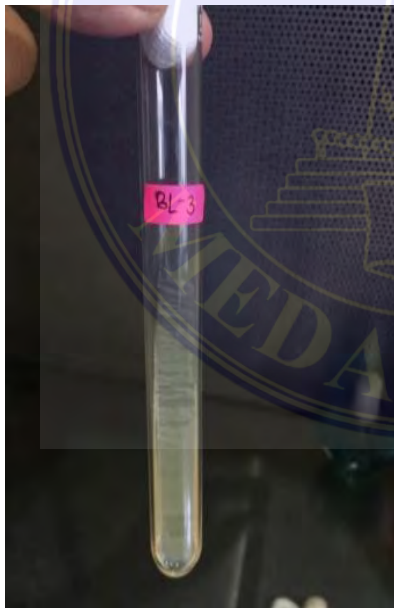
Lampiran 5. Foto isolat murni



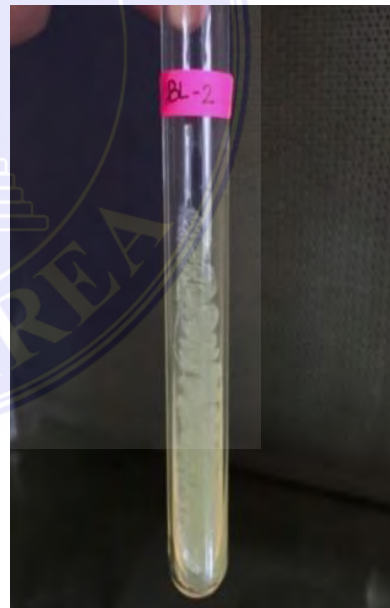
Isolat kode BL-1



Isolat kode BL-2



Isolat kode BL-3



Isolat kode BL-4



Isolat kode BL-5



Isolat kode BL-6

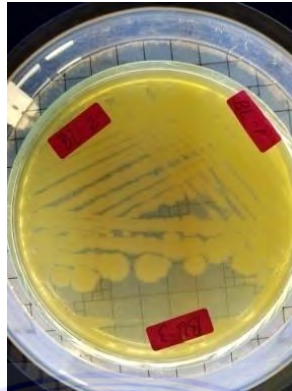


Isolat kode BL-7

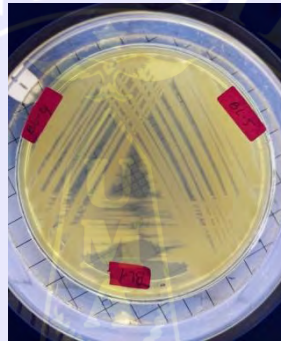


Isolat kode BL-8

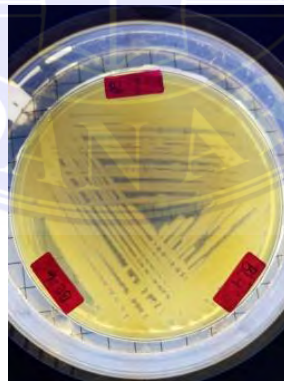
Lampiran 6. Foto Konsorsium dan Sinergisme antar isolat



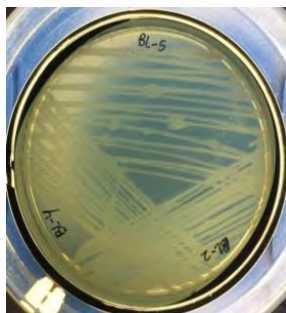
Isolat BL-1 Sinergis terhadap isolat BL-2 dan BL-3



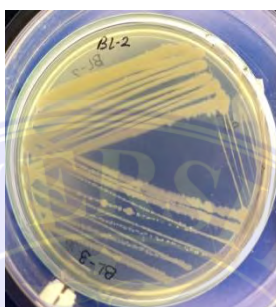
Isolat BL-1 Sinergis terhadap isolat BL-4 dan BL-5



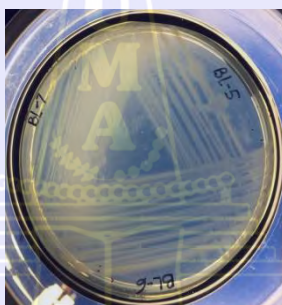
Isolat BL-1 Sinergis terhadap isolat BL-6 dan BL-7



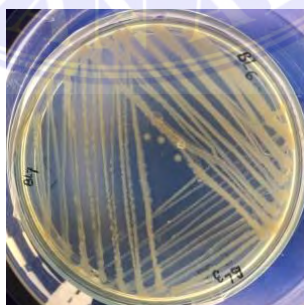
Isolat BL-2 Sinergis terhadap isolat BL-4 dan BL-5



Isolat BL-2 Sinergis terhadap isolat BL-3



Isolat BL-5 Sinergis terhadap isolat BL-6 dan BL-7



Isolat BL-3 Sinergis terhadap isolat BL-6 dan BL-7