

Isolation and Identification of Biosurfactant-Producing Bacteria in *An-aerobic* Palm Oil Waste Pools at PT. Aek Loba Plantation

Lara Santi Hemat Sipahutar^{1*}, Rasyidah¹, & Ulfayani Mayasari¹

¹Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Sumatra Utara, Medan, Indonesia;

Article History

Received: November 13th, 2023

Revised : December 02th, 2023

Accepted : January 10th, 2024

*Corresponding Author: Lara

Santi Hemat Sipahutar,

Prodi Biologi, Fakultas

Sains dan Teknologi,

Universitas Islam Negeri

Sumatra Utara, Medan,

Indonesia;

Email:

larasantihemat67@gmail.com

Abstract: Biosurfactant-producing bacteria are bacteria that have alternative energy sources, namely surfactants which contain hydrophilic and hydrophobic groups based on their molecular structure so that they can survive between different polar and hydrogen bonding fluids. Palm oil mill liquid waste is waste in the form of water or liquid, oil and organic solids produced from the processing of palm oil. The purpose of this study was to determine the genera of biosurfactant-producing bacteria found in palm oil wastewater in the *an-aerobic* pond of PT. Aek Loba plantation and to find out the bacterial species with the highest emulsification index. This study used descriptive methods and identification of bacteria through morphological characterization, gram staining tests and biochemical tests. Bacteria were isolated from palm oil wastewater by dilution method 10^{-4} , 10^{-5} and 10^{-6} . Bacterial emulsification index is calculated by emulsification test. In this study, 8 biosurfactant-producing bacterial isolates were found, consisting of 2 *Proteus* genus isolates, 2 *Enterobacter* genus isolates, 2 *Bacillus* genus bacterial isolates and 2 *Pluralibacter* genus isolates. The bacteria that had the highest emulsification index was *Pluralibacter gergoviae* with an emulsion index of 43% which was identified by molecular testing.

Keywords: Biosurfactant bacteria, emulsification, oil palm liquid waste.

Pendahuluan

Pengolahan minyak sawit yang menggunakan uap dan air mendidih dalam prosesnya menghasilkan limbah cair. Aliran limbah dari proses pembuatan minyak sawit mengandung bahan organik dan minyak dalam jumlah tinggi (Utamy *et al.*, 2021). Jika ini terjadi, jelas akan mencemari sungai. Jika limbah dibuang ke badan air yang besar, biota di sungai kemungkinan akan mati dan kualitas air akan menurun. Hal ini karena air limbah kelapa sawit mengandung *Biological Oxygen Demand (BOD)* dan molekul minyak yang tinggi sehingga menghambat siklus fotosintesis dan respirasi biota air (Yolanda *et al.*, 2019). Sistem Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) dapat menjadi solusi dalam mengolah limbah yang berasal dari industri kelapa sawit (Utamy *et al.*, 2021). Sama

halnya dengan industri kelapa sawit PT. Perkebunan Aek Loba.

Strategi pengolahan limbah yang digunakan adalah teknik biostabilisasi menggunakan organisme hidup. Kebijakan tersebut terdiri dari kolam dengan kedalamannya 3-5 meter. Diketahui bahwa limbah cair kelapa sawit mengandung mikroorganisme yang mampu menghasilkan *biosurfaktan*. Kolam *An-aerobic* salah satu kolam pengolahan yang dikenal sebagai salah satu tempat tumbuh dan berkembangnya bakteri penghasil *biosurfaktan* karena limbah cair mengandung minyak dan bakteri tersebut mendegradasinya sehingga dapat mengurangi pencemaran minyak. Perbedaan kedalaman perairan mencapai 3 hingga 5 meter. Diketahui limbah cair kelapa sawit mengandung organisme mikroskopis yang berpotensi sebagai pembuat *biosurfaktan*.

Kolam *An-aerob* merupakan salah satu kolam perlakuan yang diketahui menjadi salah satu tempat tumbuh dan berkembangnya bakteri penghasil *biosurfaktan* karena limbah cair mengandung minyak yang akan didegradasi oleh bakteri tersebut sehingga dapat mengurangi pencemaran minyak diperairan.

Surfaktan adalah senyawa kompleks yang terdiri dari gugus hidrofilik, bagian polar yang melarut di air, dan gugus *Hidrofobik*, bagian nonpolar yang larut dalam minyak. *Biosurfaktan* telah dipelajari kemampuannya untuk mendegradasi produk limbah seperti minyak dalam air. Tingkat bahaya *biosurfaktan* yang lebih rendah, biodegradabilitas yang lebih tinggi, dan ramah lingkungan membuat *biosurfaktan* berpotensi mendegradasi limbah berminyak, serta memiliki aktivitas dan keamanan yang lebih baik daripada surfaktan kimia. Terdapat banyak bakteri penghasil *biosurfaktan* di area yang terkontaminasi minyak. Misalnya saja ditemukan di IPAL (Instalasi Pengolahan Air Limbah) pabrik kelapa sawit (Firmansyah *et al.*, 2021).

Berdasarkan penelitian terdahulu oleh Adi Firmansyah *et al.*, (2020) terkait isolasi dan identifikasi bakteri penghasil surfaktan pada tangki *An-aerobik* Instalasi Pengolahan Air Limbah Industri Kelapa Sawit Provinsi Riau, ditemukan 3 strain bakteri penghasil surfaktan yaitu *Enterobacter aerogenes*, *Proteus vulgaris* dan *Proteus mirabilis*. Sebuah studi oleh Wastewater *et al.* (2021) mengenai isolasi dan identifikasi bakteri penghasil surfaktan pada air limbah bengkel, ditemukan 6 strain bakteri penghasil surfaktan yaitu *Providencia*, *Proteus*, *Acynotobakter*, *Bacillus*, *Aeromonas* dan *Serratia*.

Penelitian terkait jenis bakteri penghasil *biosurfaktan* yang berasal dari pabrik pengolahan limbah pabrik kelapa sawit PT. Perkebunan Aek Loba belum pernah dilakukan sebelumnya. Berdasarkan hal tersebut, penulis tertarik melakukan penelitian berjudul “Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penghasil *Biosurfaktan* pada Kolam *An-aerob* Limbah Cair Kelapa Sawit di PT. Perkebunan Aek Loba” untuk mengetahui jenis bakteri penghasil *biosurfaktan* apa saja yang dapat ditemukan.

Bahan dan Metode

Bahan

Bahan yang digunakan antara lain: Limbah cair kelapa sawit, *Aquadets*, *Media MSM (Mineral Salt Medium)*, *Media Mac Konkey*, *Media TSIA*, *Media SIM*, *Media SCA*, Minyak makan, Larutan H_2O_2 3%, Pewarna kristal violet, Pewarna lugol, Pewarna safranin, Alkohol 70%, kapas, *Tissue*, *Ice pack*. Sedangkan alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain: *Cawan petri*, *Jarum ose*, *Bunsen*, Tabung reaksi, Oven, Inkubator, Inkubator Shaker, *Centrifuge*, *Autoclave*, Labu ukur, Timbangan analitik, *Erlenmeyer*, Botol sampel, *Aluminium foil*, *Coolbox*, *Mikropipet*, *Vortex*, Mikroskop dan pelengkapannya, Penjepit tabung reaksi, Pipet tetes, Rak tabung reaksi, Gelas beaker, Batang pengaduk, Spatula, *Hot plate stirrer*, Batang L, Alat tulis dan Kamera *handpone*.

Metode

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober-November 2022. Sampel limbah cair diambil dari kolam *An-aerob* di PT. Perkebunan Aek Loba, Kabupaten Asahan, Provinsi Sumatera Utara selanjutnya dilakukan isolasi dan identifikasi di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Sumatera Utara Medan. Sampel penelitian ini diambil dengan metode *Purposive* sampling. Pengambilan sampel dilakukan secara acak di dua lokasi yaitu pada kolam *An-aerob* 1 dan kolam *An-aerob* 2. Sampel dipilih dengan titik pengambilan yang berlandaskan kriteria sesuai tujuan penelitian, seperti adanya kandungan lumpur dan minyak pada permukaan air limbah (Firmansyah *et al.*, 2021).

Cara pengambilan sampel yaitu dimasukkan botol sampel kedalam air limbah dibuka tutup botol sampel lalu tunggu hingga penuh kemudian ditutup botol dan dibungkus dengan *aluminium foil* dan dimasukkan kedalam *coolbox* yang berisi *ice pack*. Identifikasi *genus* bakteri diidentifikasi secara deskriptif, data didapatkan dari uji morfologi dan uji biokimia akan dibandingkan dengan buku *Bergey's Manual of Determinate Bacteriology* sehingga diperoleh nama *genus* dari bakteri yang ditemukan. Untuk bakteri yang memiliki persen penghasil *biosurfaktan* tertinggi

akan diidentifikasi lanjut menggunakan metode Molecular untuk mengetahui spesies bakteri tersebut (Wastewater *et al.*, 2021). Indeks emulsifikasi pada uji emulsifikasi bakteri penghasil *biosurfaktan* pada penelitian ini dihitung dengan rumus Cooper dan Goldenberg (1987) pada persamaan 1.

$$IE(24) = \frac{\text{Tinggi lapisan emulsi}}{\text{Tinggi total larutan}} \times 100\% \quad (1)$$

Hasil dan Pembahasan

Pengambilan Sampel

Hasil pengukuran suhu pada air kolam *An-aerob* 1 dan kolam *An-aerob* 2 masing-masing adalah 33,2°C dan 32,1°C. Hasil tersebut menjelaskan bahwa bakteri yang hidup di limbah cair tersebut dapat dikategorikan dalam kelompok *Mesofilik* atau bakteri yang bertahan hidup pada suhu kamar atau kelompok mikroba yang dapat bertahan hidup pada pH 5,5-8,0 (Firmansyah *et al.*, 2021).

Tabel 1. Pengukuran Parameter Kualitas Limbah Cair Kelapa Sawit

Titik Sampling	pH	Suhu
Kolam <i>An-aerob</i> 1	8,2	33,2°C
Kolam <i>An-aerob</i> 2	8,1	32,1°C

Isolasi bakteri

Suatu proses bakteri yang diambil melalui lingkungan alamnya dan ditumbuhkan dalam media buatan bertujuan menghasilkan biakan murni disebut sebagai isolasi bakteri. Prinsip dasar isolasi mikroba adalah pemisahan satu jenis mikroba dengan mikroba lainnya yang berasal dari campuran bermacam-macam mikroba. Sel-sel mikroba akan membentuk koloni-koloni sel yang tetap pada tempatnya bila ditumbuhkan dalam media padat. (Sabbathini *et al.*, 2017).

Selaras dengan tujuan penelitian sebelumnya, terdapat 8 isolat bakteri yang berbeda setelah diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C yang ditumbuhkan pada media *Mac Conkey* dengan metode cawan sebar. Pada titik sampling 1 yaitu kolam *An-aerob* 1 ditemukan 4 isolat bakteri masing-masing pada pengenceran 10⁻⁴ ditemukan 1 isolat, pada pengenceran 10⁻⁵ ditemukan 1 isolat dan pada pengenceran 10⁻⁶ ditemukan 2 isolat yang

berbeda. Pada titik sampling 2 yaitu kolam *An-aerob* 2 ditemukan 4 isolat masing-masing pada pengenceran 10⁻⁵ ditemukan 2 isolat dan pada pengenceran 10⁻⁶ ditemukan 2 isolat yang berbeda.

Pemurnian bakteri

Bakteri hasil isolasi selanjutnya dilakukan pemurnian dengan cara menumbuhkan bakteri pada media *Mac Conkey* baru dengan metode cawan gores (*streak plate*) kuadran. Bakteri dengan morfologi berbeda harus dipisahkan dan dimurnikan pada media *Mac Conkey* baru dengan metode cawan gores (*Sterak plate*) kuadran agar diperoleh koloni-koloni bakteri tunggal sehingga mempermudah identifikasi bakteri dan untuk uji-uji lain selanjutnya. Berikut kode isolat bakteri yang berhasil dimurnikan dari kedua titik sampling seperti pada tabel 2.

Tabel 2. Kode Isolat Bakteri

Titik Samplig	Kode Isolat
Kolam <i>An-aerob</i> 1	K1P4B1
	K1P5B2
	K1P6B3
	K1P6B4
Kolam <i>An-aerob</i> 2	K2P4B5
	K2P5B6
	K2P5B7
	K2P6B8

Pemurnian bertujuan untuk menghasilkan kultur murni yang diinginkan bebas dari kontaminasi mikroba lain. Kloni mikroba yang dimurnikan dipilih berlandaskan perbedaan warna, elevasi, tekstur permukaan, garis radial, bentuk, dan ukuran untuk mendapatkan isolat murni (Ed-Har *et al.*, 2017).

Uji emulsifikasi bakteri

Jumlah isolat bakteri setelah dilakukan pemurnian ditemukan pada sampel limbah cair kelapa sawit PT. Perkebunan Aek Loba saat penelitian yaitu 8 jenis isolat bakteri yang kemudian seluruh isolat diterapkan pengujian emulsifikasi yang bertujuan mengetahui temuan bakteri apakah memiliki kemampuan dalam memproduksi *biosurfaktan* atau tidak. Berikut hasil indeks emulsifikasi bakteri.

Tabel 3. Hasil Indeks Emulsifikasi Bakteri

Kode Isolat	Tinggi Keseluruhan	Tinggi Emulsifikasi	Hasil Indeks Emulsifikasi
K1P4B1	32 mm	11,9 mm	37,18 %
K1P5B2	32,9 mm	14 mm	42,55 %
K1P6B3	32 mm	12 mm	37,5 %
K1P6B4	31 mm	12 mm	38,7 %
K2P4B5	33 mm	12 mm	36,36 %
K2P5B6	34 mm	11,9 mm	35 %
K2P5B7	30 mm	12,9 mm	43 %
K2P6B8	32,9 mm	12 mm	36,47 %

Menurut Purnomohadi (2010), uji emulsifikasi digunakan untuk memastikan apakah *biosurfaktan* dapat mengemulsikan cairan dengan berbagai polaritas atau tidak. Indeks emulsifikasi adalah bagaimana hasil uji emulsifikasi dinyatakan. Pengujian emulsifikasi menunjukkan bakteri yang berasal dari limbah cair kelapa sawit PT. Perkebunan Aek Loba 8 isolat bakteri semua termasuk bakteri penghasil *biosurfaktan*. Isolat bakteri yang memiliki aksi *biosurfaktan* yang paling tinggi adalah mikroorganisme dengan kode K2P5B7 dengan indeks emulsi 43% dan aksi *biosurfaktan* paling sedikit ditunjukkan oleh bakteri K2P5B6 dengan indeks emulsi 35%. Menurut Purnomohadi (2011) dalam jurnal Kamallia *et al.* (2021) yang menyatakan bahwa bakteri dengan indeks emulsifikasi antara 30% sampai 80% adalah yang menghasilkan *biosurfaktan*.

Karakterisasi morfologi bakteri

Karakterisasi morfologi bakteri secara makroskopis

Berdasarkan hasil penelitian ditemukan sebanyak 8 isolat bakteri dengan berbagai karakteristik morfologi.

Tabel 4. Karakteristik Morfologi Bakteri

Kode Isolat	Karakteristik Morfologi Bakteri	
	Bentuk	Tepi
K1P4B1	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>
K1P5B2	<i>Irregular</i>	<i>Undulate</i>
K1P6B3	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>
K1P6B4	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>
K2P4B5	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>
K2P5B6	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>
K2P5B7	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>
K2P6B8	<i>Circular</i>	<i>Undulate</i>

Kode Isolat	Karakteristik Morfologi Bakteri		
	Elevasi	Ukuran	Warna
K1P4B1	<i>Flat</i>	<i>Small</i>	Cream
K1P5B2	<i>Flat</i>	<i>Punctiform</i>	Pink
K1P6B3	<i>Umbonate</i>	<i>Moderat</i>	Putih ditengah pink
K1P6B4	<i>Convex</i>	<i>Moderat</i>	Pink
K2P4B5	<i>Convex</i>	<i>Small</i>	Cream
K2P5B6	<i>Convex</i>	<i>Moderat</i>	Pink
K2P5B7	<i>Convex</i>	<i>Small</i>	Pink
K2P6B8	<i>Convex</i>	<i>Moderat</i>	Pink

Karakterisasi Morfologi Bakteri Secara Mikroskopis (Pewarnaan Gram)

Bakteri gram positif dan gram negatif terbagi atas dua jenis bakteri yang dapat dibedakan satu sama lain berdasarkan struktur dinding selnya. Menggunakan pewarna dan mikroskop, perbedaannya dapat diamati untuk ditentukan. Mikroorganisme diwarnai dengan warna violet dan yodium dan dicuci dengan alkohol, kemudian diwarnai dengan safranin. Jika sel bakteri diamati secara mikroskopis dan memiliki warna merah, mereka diklasifikasikan sebagai bakteri gram negatif, sedangkan jika sel memiliki warna ungu atau biru, mereka diklasifikasikan sebagai bakteri gram positif (Rini & Rohmah, 2020).

Tabel 5. Hasil Pewarnaan Gram Bakteri

Kode Isolat	Pewarnaan Gram Bakteri		
	Bentuk Sel	Warna	Keterangan
K1P4B1	<i>Basil</i>	Merah	Negatif
K1P5B2	<i>Coccus</i>	Merah	Negatif
K1P6B3	<i>Basil</i>	Merah	Negatif
K1P6B4	<i>Basil</i>	Merah	Negatif
K2P4B5	<i>Basil</i>	Ungu	Positif
K2P5B6	<i>Basil</i>	Ungu	Positif
K2P5B7	<i>Basil</i>	Merah	Negatif
K2P6B8	<i>Basil</i>	Merah	Negatif

Bakteri gram negatif ditandai dengan dinding sel bakteri berwarna merah pada saat diamati dibawah mikroskop ini dikarenakan karena dinding sel bakteri tidak banyak mengandung peptidoglikan atau peptidoglikan pada dinding sel tipis sehingga dinding sel bakteri tidak mampu mempertahankan zat warna primer yaitu kristal violet karena akan luntur ketika diberi alkohol dan zat tandingnya yaitu zat warna safranin

sehingga dinding sel bakteri pada akhirnya akan mempertahankan warna dari zat warna safranin tersebut yaitu berwarna merah (Firmansyah *et al.*, 2021).

Karakterisasi bakteri berdasarkan uji biokimia

Karakterisasi bakteri dengan uji biokimia bertujuan agar diketahui berbagai sifat fisiologis dari koloni bakteri yang telah ditemukan pada proses isolasi. Biokimia bakteri berhubungan dengan proses metabolisme sel bakteri. Pengamatan morfologi bakteri tak cukup untuk mengidentifikasi bakteri, namun juga harus diketahui sifat fisiologis dari bakteri itu sendiri (Silalahi *et al.*, 2020). Pada penelitian ini uji biokimia yang dilakukan terhadap 8 isolat bakteri yang telah ditemukan terdiri dari uji katalase, uji motilitas, uji TSIA dan uji SCA. Berdasarkan hasil uji biokimia yang telah dilakukan terhadap 8 isolat bakteri diperoleh hasil yang berbeda-beda dari setiap isolat bakteri.

Tabel 6. Hasil Uji Biokimia Bakteri

Kode Isolat	Karakteristik Berdasarkan Uji Biokimia					
	Katalase	TSIA			Citrat (SCA)	Motil (SIM)
		S/B	CO ₂	H ₂ S		
K1P4B1	+	+/-	-	+	-	+
K1P5B2	+	-/+	+	+	-	+
K1P6B3	+	-/+	+	-	+	+
K1P6B4	+	+/+	+	+	-	+
K2P4B5	+	+/+	+	+	-	+
K2P5B6	+	+/+	+	+	-	+
K2P5B7	+	-/+	+	-	+	+
K2P6B8	+	+/+	-	-	+	+

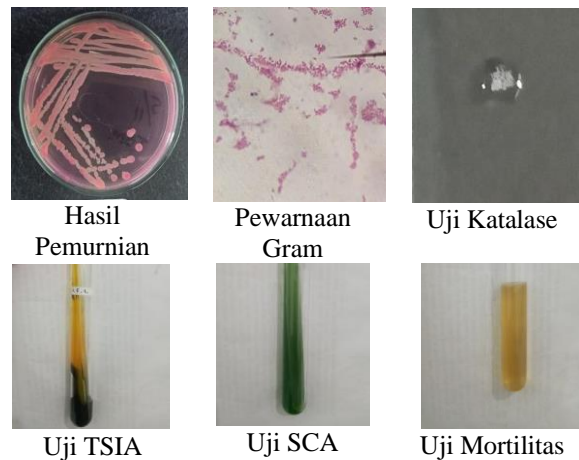
Identifikasi *genus* bakteri

Isolat bakteri yang telah ditemukan ditentukan *genusnya* berdasarkan analisis karakteristik morfologi, uji pewarnaan gram dan uji biokimia. Sifat-sifat yang ditunjukkan oleh masing-masing bakteri ini dibandingkan dengan buku *Bergey's Manual of Determinate Bacteriology Seventh Edition* dan jurnal-jurnal ilmiah.

Genus Proteus

Hasil karakterisasi dan uji biokimia bakteri *genus Proteus* disajikan pada gambar 1. *Genus Proteus* ada yang menghasilkan hidrogen

sulfide namun ada juga yang tidak serta katalase positif (Utamy *et al.*, 2021). Bakteri ini biasanya terdapat secara alami di saluran pencernaan manusia, berbagai jenis hewan, di tempat buang air besar, tanah, dan air yang tercemar. Menurut Waluyo (2018) Bakteri *Proteus* sp. Tergolong dalam famili *Enterobacteriaceae* bersifat fakultatif *aerob/An-aerob* artinya bakteri dapat bertahan hidup dengan lingkungan yang ada oksigen dan tanpa oksigen. Sesuai dengan ciri-ciri bakteri yang ditemukan dimana bakteri diisolasi dari kolam yang bersifat *An-aerob*.

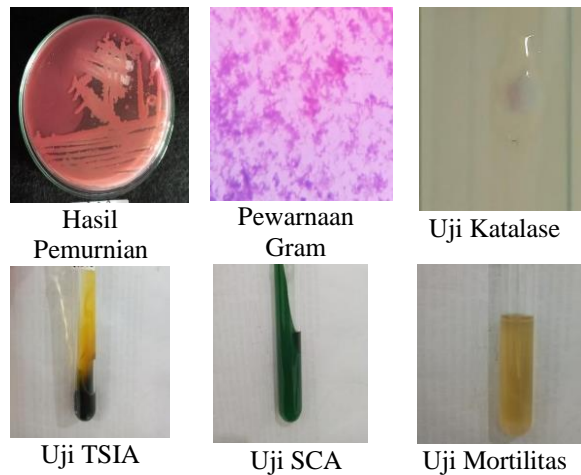


Gambar 1. Hasil Karakterisasi dan Uji Biokimia Bakteri *Genus Proteus*

Genus Bacillus

Hasil karakterisasi dan uji biokimia bakteri *genus Bacillus* disajikan pada gambar 1. Berdasarkan buku *Bergey's Manual of Determinate Bacteriology Seventh Edition* dikatakan bahwa *Bacillus* memiliki sel berbentuk batang, terkadang berantai, mampu menghasilkan endospore, motil atau non-motil. Bakteri bersifat gram-positif, beberapa spesies menjadi gram negatif. Karbohidrat umumnya difermentasi dengan produksi keasaman yang kurang, beberapa juga menghasilkan gas yang terlihat. Katalase positif dan termasuk bakteri *aerobik* atau fakultatif *An-aerobik* hal ini sesuai dengan kondisi habitat awal bakteri yang diisolasi dari kolam *An-aerob* limbah cair kelapa sawit. Suhu maksimum untuk pertumbuhan sangat bervariasi. Umumnya ditemukan di tanah, hewan khususnya serangga, parasit atau patogen. *Bacillus* bersifat fakultatif anaerob, katalase positif, mampu memfermentasikan sukrosa, laktosa dan glukosa,

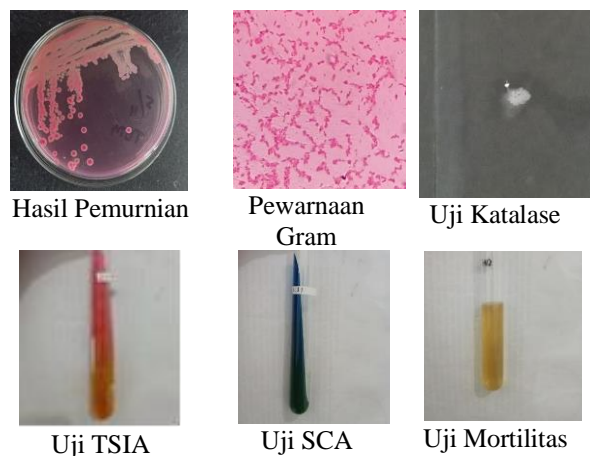
menghasilkan gas dan H₂S dalam metabolisemenya, ada yang tidak menggunakan sitrat sebagai sumber karbon dan bersifat motil (Utari dan Sayuti, 2019).



Gambar 2. Hasil Karakterisasi dan Uji Biokimia Bakteri *Genus Bacillus*

Genus *Pluralibacter*

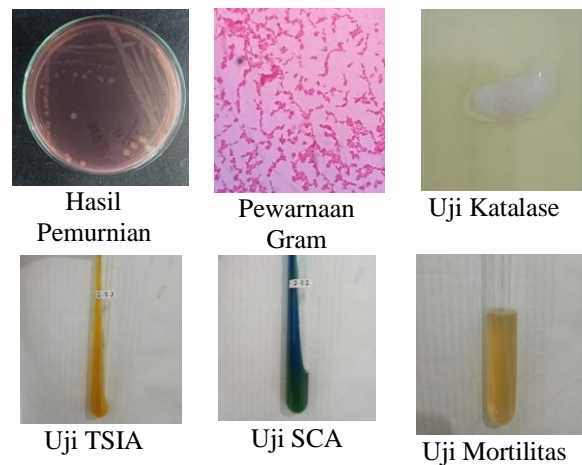
Hasil karakterisasi dan uji biokimia bakteri *genus Pluralibacter* pada gambar 2. Hasil uji identifikasi molekuler yang menyatakan bakteri *genus Pluralibacter* memiliki sel bakteri berbentuk batang gram negatif, katalase positif, pada uji TSIA bersifat basa/asam. Artinya bakteri mampu memfermentasikan glukosa namun tidak untuk laktosa dan sukrosa yang tidak dapat difermentasikan oleh bakteri dengan baik sehingga bersifat basa. Tidak terdapat H₂S tetapi terdapat gas, simon sitrat positif.



Gambar3. Hasil Karakterisasi dan Uji Biokimia Bakteri *Genus Pluralibacter*

Genus *Enterobacter*

Hasil karakterisasi dan uji biokimia bakteri *genus Enterobacter*: Bakteri *Enterobacter* adalah bakteri berbentuk batang motil yang dapat memfermentasi laktosa dan sukrosa, tidak menghasilkan gas selama fermentasi karbohidrat, menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi, dapat membentuk endospora, dan dapat bernafas secara fakultatif *An-aerobik* (Utamy *et al.*, 2021 dalam Sayuti, 2021). Bakteri ini tumbuh subur pada pH 7-8 dan suhu antara 30°C dan 37°C.



Gambar 4. Hasil Karakterisasi dan Uji Biokimia Bakteri *Genus Enterobacter*

Identifikasi molekuler bakteri (PCR/ Polymerase Chain Reaction)

Identifikasi bakteri dengan metode Molekuler (*PCR/Polymerase Chain Reaction*) dilakukan pada bakteri *genus Pluralibacter* dengan kode isolat K2P5B7 disebabkan bakteri ini memperoleh hasil indeks emulsi tertinggi dari semua isolat bakteri yang telah ditemukan yaitu sebesar 43%. Adapun tujuan dilakukan identifikasi molekuler pada bakteri adalah untuk memperoleh rangkaian DNA serta untuk mengetahui spesies dari bakteri tersebut. Penelitian Amilia *et al.*, (2013) ditemukannya *Enterobacter gergoviae* yang di isolasi dari deposit lilin pada pipa transisi minyak mentah yang terbukti memiliki kemampuan dalam memecah hidrokarbon pada minyak mentah sehingga bakteri tersebut dapat mendegradasi minyak pada perairan yang telah tercemar dengan menghasilkan senyawa *biosurfaktan*.

Bakteri yang telah ditemukan memiliki kemampuan dalam menghasilkan *biosurfaktan*

yang berbeda-beda yang dapat dilihat dari seberapa tinggi indeks emulsifikasi yang dihasilkan oleh bakteri tersebut. Hal ini dapat disebabkan oleh beberapa variabel, antara lain adanya campuran *Hidrofobik* dan hidrofilik, pH, suhu dan bagian atau partikel dari *biosurfaktan* itu sendiri (Wastewater *et al.*, 2021). Tinggi-rendahnya indeks emulsifikasi pada setiap bakteri dapat disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya.

Jenis biosurfaktan yang dihasilkan

Biosurfaktan yaitu molekul ekstraseluler berstruktur variasi yang dihasilkan dari permukaan sel mikroba. Bakteri penghasil *biosurfaktan* di klasifikasikan berdasarkan berat molekulnya yaitu *Biosurfaktan* Berat Molekul Rendah yaitu *biosurfaktan* yang mempunyai berat molekul rendah pada umumnya ialah *Glikolipid* atau *lipopeptida*. *Glikolipid* yang paling banyak diteliti ialah *rhamnolipids*, *trehalolipids*, dan *sophorolipids*, yang merupakan disakarida yang diasilasi dengan lemak tak jenuh rantai panjang atau lemak tak jenuh hidroksil. Golongan *biosurfaktan* berat molekul rendah mampu menurunkan tegangan permukaan dan tekanan interfasial yang sangat tinggi (Hidayah *et al.*, 2018).

Lingkungan

Berdasarkan data yang diperoleh dari lapangan nilai derajat keasaman (pH) pada air kolam *An-aerob* 1 dan kolam *An-aerob* 2 masing-masing yaitu 8,2 dan 8,1 sehingga normal dan bermanfaat bagi kemampuan bakteri untuk bertahan hidup. Nilai pH yang didapat mendeskripsikan bahwa air di kolam tersebut sangat larut, yang dapat mendukung keberadaan mikroba penghasil *biosurfaktan*. Menurut Yelti *et al.*, (2014) dalam jurnal Wastewater *et al.*, (2021) nilai pH optimum untuk pertumbuhan bakteri adalah 4-9.

Nutrisi

Salah satu sumber nutrisi yang sangat mempengaruhi bakteri dalam menghasilkan *biosurfaktan* adalah sumber karbon yang menjadi bahan utama dalam proses produksi *biosurfaktan*. Sumber karbon diperoleh bakteri dari minyak yang terdapat di lingkungan hidupnya. Menurut Fazli *et al.* (2022)

penggunaan jenis sumber karbon sebagai substard pertumbuhan bakteri sangat mempengaruhi produksi *biosurfaktan*.

Pembahasan

Pengambilan Smapel

Hasil pengukuran suhu pada air kolam *An-aerob* 1 dan kolam *An-aerob* 2 masing-masing adalah 33,2°C dan 32,1°C (Tabel 1). Hasil tersebut menjelaskan bahwa bakteri yang hidup di limbah cair tersebut dapat dikategorikan ke dalam kelompok *Mesofilik* yaitu bakteri yang hidup pada suhu kamar yaitu kelompok mikroba yang dapat hidup pada pH 5,5-8,0 (Firmansyah *et al.*, 2021). Suhu di mana bakteri penghasil *biosurfaktan* dapat hidup sangat ideal. Hal ini sejalan dengan penilaian Sopiah *et al.*, 2011) dalam jurnal Utamy *et al.*, (2021) yang mengatakan bahwa pengaruh suhu terhadap aksi *biosurfaktan* untuk mengemulsi campuran *Hidrofobik* tidak membuat perbedaan negatif, sehingga *biosurfaktan* memiliki opsi untuk mengemulsi campuran *Hidrofobik* baik pada suhu kamar maupun 80°C. Hal tersebut selaras dengan penelitian Waluyo (2010) yang menyatakan bahwa bakteri yang dapat menghasilkan *biosurfaktan* bersifat *Mesofilik* atau yang hidup pada suhu antara 15 sampai 55 derajat Celcius dengan suhu maksimum 25 sampai 40 derajat Celcius (Kamallia *et al.*, 2021).

Tingkat keasaman (pH) pada air kolam *An-aerob* 1 dan kolam *An-aerob* 2 masing-masing adalah 8,2 dan 8,1, sehingga tergolong khas dan baik untuk daya tahan mikroorganisme. Nilai pH yang diperoleh menunjukkan bahwa air kolam sedikit basa sehingga memungkinkan bakteri penghasil *biosurfaktan* untuk berkembang biak. Menurut Yelti *et al.*, (2014) dalam jurnal Wastewater *et al.*, (2021) nilai pH optimum untuk pertumbuhan bakteri adalah 4-9. Menurut Zahara (2014) dalam jurnal Kamallia *et al.*, (2021) menyatakan bahwa konsentrasi ion hidrogen dalam air limbah merupakan parameter kualitas yang penting. Konsentrasi pH dapat diartikan sebagai adanya kehidupan mikroba dalam limbah cair (biasanya antara 6 dan 9). Dalam pengolahan air limbah, pH juga memiliki arti penting karena dapat digunakan untuk mengetahui keadaan mikroba dalam limbah cair. Kisaran pH ideal untuk mikroorganisme bervariasi dari kelompok ke kelompok.

Isolasi

Identifikasi jenis, mempelajari kultur, morfologi, fisiologi, dan karakteristik bakteri,

mereka harus dipisahkan. Metode penataan disebut pemisahan bergabung dengan pembersihan. Suatu proses di mana bakteri diambil dari lingkungan alamnya dan ditumbuhkan dalam media buatan untuk menghasilkan biakan murni disebut sebagai isolasi bakteri. Pemisahan satu jenis mikroba dengan mikroba lain yang berasal dari campuran berbagai mikroba merupakan prinsip dasar isolasi mikroba. Sel-sel mikroba akan membentuk koloni-koloni sel yang tetap pada tempatnya bila ditumbuhkan dalam media padat. (Sabbathini *et al.*, 2017).

Berlandaskan temuan penelitian sebelumnya, ditemukan 8 isolat bakteri yang berbeda setelah diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C yang ditumbuhkan pada media Mac Conkey dengan metode cawan sebar. Pada titik sampling 1 yaitu kolam *An-aerob* 1 ditemukan 4 isolat bakteri masing-masing pada pengenceran 10^{-4} ditemukan 1 isolat, pada pengenceran 10^{-5} ditemukan 1 isolat dan pada pengenceran 10^{-6} ditemukan 2 isolat yang berbeda. Pada titik sampling 2 yaitu kolam *An-aerob* 2 ditemukan 4 isolat masing-masing pada pengenceran 10^{-5} ditemukan 2 isolat dan pada pengenceran 10^{-6} ditemukan 2 isolat yang berbeda.

Kedua titik sampling ditemukan hasil isolat bakteri yang berbeda-beda. Ini dapat disebabkan oleh waktu tumbuh bakteri pada setiap pengenceran berbeda-beda karena setiap bakteri memiliki waktu tumbuh yang tidak sama, bakteri yang bersifat rewel dan sulit untuk tumbuh memiliki waktu yang cukup lama untuk menumbuhkannya pada media pertumbuhan. Selain itu dapat juga disebabkan oleh keadaan lingkungan pada saat proses penumbuhan bakteri tidak sesuai dengan keadaan lingkungan habitat asli bakteri sehingga pertumbuhan bakteri terhambat bahkan tidak tumbuh.

Pemurnian bakteri

Delapan isolat bakteri yang telah dimurnikan setelah diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C, seluruhnya mendapatkan isolat murni berupa koloni-koloni tunggal yang selanjutnya dapat digunakan pada proses karakterisasi yang berupa pewarnaan gram, dan juga karakterisasi dengan uji biokimia. Pemurnian bertujuan untuk menghasilkan kultur murni yang diinginkan bebas dari kontaminasi mikroba lain. Kloni mikroba yang dimurnikan dipilih berlandaskan perbedaan warna, elevasi,

tekstur permukaan, garis radial, bentuk, dan ukuran untuk mendapatkan isolat murni (Ed-Har *et al.*, 2017).

Uji emulsifikasi bakteri

Uji emulsifikasi digunakan untuk memastikan apakah *biosurfaktan* dapat mengemulsikan cairan dengan berbagai polaritas atau tidak (Purnomohadi, 2010). Indeks emulsifikasi adalah bagaimana hasil uji emulsifikasi dinyatakan. Kemampuan senyawa ini untuk mengemulsi minyak juga menurun dengan konsentrasi *biosurfaktan* yang lebih rendah, oleh karena itu indeks emulsifikasi berhubungan dengan konsentrasi surfaktan. Kemampuan biosurfaktan untuk mengemulsi dan aksi permukaan tidak selalu terkait. Terlepas dari kemampuannya untuk mengurangi tegangan permukaan, *biosurfaktan* yang dikenal sebagai *sophorolipid* tidak memiliki kemampuan untuk mengemulsi (Wastewater *et al.*, 2021). Akibatnya, uji emulsifikasi hanyalah indikasi awal adanya *biosurfaktan* yang dihasilkan oleh bakteri tertentu. Hasil indeks uji emulsi isolat bakteri pada sampel limbah cair kelapa sawit PT. Perkebunan Aek Loba/

Karakterisasi Morfologi Bakteri

Karakterisasi morfologi bakteri secara makroskopis

Karakterisasi morfologi bakteri yang ditemukan dari kedua titik sampling dapat dilakukan secara makroskopis dengan mengamati secara langsung bentuk koloni, tepian koloni, elevasi koloni, serta warna koloni bakteri yang ditemukan (Zuraidah *et al.*, 2020). Berdasarkan hasil penelitian ditemukan sebanyak 8 isolat bakteri dengan berbagai karakteristik morfologi yang dapat dilihat secara langsung seperti yang telah disajikan pada tabel karakteristik morfologi bakteri di atas.

Karakterisasi morfologi bakteri secara mikroskopis (pewarnaan gram)

Bakteri gram positif dan gram negatif adalah dua jenis bakteri yang dapat dibedakan satu sama lain berdasarkan struktur dinding selnya. Menggunakan pewarna dan mikroskop, perbedaannya dapat diamati untuk ditentukan. Mikroorganisme diwarnai dengan warna violet dan yodium dan dicuci dengan alkohol, kemudian diwarnai dengan safranin. Jika sel bakteri diamati secara mikroskopis dan memiliki warna merah,

mereka diklasifikasikan sebagai bakteri gram negatif, sedangkan jika sel memiliki warna ungu atau biru, mereka diklasifikasikan sebagai bakteri gram positif (Rini & Rohmah, 2020).

Pengamatan mikroskopis terhadap 8 isolat bakteri yang telah ditemukan pada kedua titik sampling yang berasal dari limbah cair kelapa sawit PT. Perkebunan Aek Loba dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x ditemukan 2 isolat bakteri dengan kode isolat K2P4B5 dan K2P5B6 termasuk kedalam bakteri gram positif dengan bentuk sel batang (*basil*), 6 isolat bakteri termasuk kedalam bakteri gram negatif dengan kode isolat K1P4B1, K1P6B3, K1P6B4, K2P5B7, K2P6B8 dengan bentuk sel batang (*basil*) dan kode isolat K1P5B2 bentuk sel bakteri bulat (*coccus*).

Berdasarkan uji pewarnaan gram, bakteri dibagi menjadi dua kelompok diantaranya bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Kelompok bakteri gram positif ditandai dengan dinding sel bakteri berwarna biru atau ungu pada saat diamati dibawah mikroskop. Warna ungu atau biru pada dinding sel bakteri dikarenakan dinding sel banyak mengandung peptidoglikan sehingga peptidoglikan mampu mempertahankan warna ungu atau biru dari warna primer yaitu zat warna kristal violet serta dibantu oleh iodine untuk melekatkan zat warna tersebut. Banyaknya peptidoglikan yang terkandung pada sel bakteri ketika diberi alkohol ataupun zat warna safranin sebagai zat penanding tidak akan dapat melunturkan warna kristal violet dari dinding sel bakteri.

Karakterisasi bakteri berdasarkan uji biokimia

Karakterisasi bakteri dengan uji biokimia bertujuan agar diketahui berbagai sifat fisiologis dari koloni bakteri yang telah ditemukan pada proses isolasi. Biokimia bakteri berhubungan dengan proses metabolisme sel bakteri. Pengamatan morfologi bakteri tak cukup untuk mengidentifikasi bakteri, namun juga harus diketahui sifat fisiologis dari bakteri itu sendiri (Silalahi *et al.*, 2020). Pada penelitian ini uji biokimia yang dilakukan terhadap 8 isolat bakteri yang telah ditemukan terdiri dari uji katalase, uji motilitas, uji TSIA dan uji SCA. Berdasarkan hasil uji biokimia yang telah dilakukan terhadap 8 isolat bakteri diperoleh hasil yang berbeda-beda dari setiap isolat bakteri seperti yang ditunjukkan pada tabel hasil uji biokimia bakteri di atas.

Uji katalase

Berdasarkan penelitian ini diperoleh hasil yang ditunjukkan pada tabel 6 bahwasannya semua isolat bersifat positif pada uji katalase yang menandakan bahwa kedelapan isolat memiliki kemampuan menghasilkan enzim katalase yang berfungsi menghidrolisa H_2O_2 yang memiliki sifat racun menjadi H_2O dan O_2 hal tersebut dapat dilihat dari terbentuknya gelembung-gelembung oksigen pada isolat setelah diberi larutan H_2O_2 3%.

Uji TSIA (Triple Sugar Iron Agar)

Hasil uji TSIA yang telah dilakukan pada isolat bakteri yang ditemukan disajikan pada tabel 6 Warna kuning pada media menandakan proses fermentasi karbohidrat oleh bakteri, sedangkan apabila media berwarna merah menyala berarti bahwa bakteri hanya menggunakan pepton sebagai sumber karbon. Jika warna *slant* kuning dan *butt* merah, berarti bakteri tersebut hanya dapat memfermentasi glukosa. Apabila warna *slant* dan *butt* kuning, itu berarti bakteri tersebut bisa memfermentasi glukosa dan laktosa atau glukosa dan sukrosa. Jika warna *slant* dan *butt* merah menandakan itu berarti bakteri tersebut tidak dapat memfermentasikan ketiga gula tersebut. Natrium tiosulfat dalam media direduksi oleh beberapa bakteri menjadi hidrogen sulfida (H_2S) yang merupakan gas tak berwarna. Hidrogen sulfida akan beraksi dengan ion besi dalam media untuk menghasilkan besi sulfida yang dapat dilihat dengan adanya endapan hitam pada media (Husain & Wardhani, 2021).

Uji Motilitas

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh hasil seperti yang ditunjukkan pada tabel 6 bahwa semua isolat bersifat positif pada uji motilitas yang dapat dilihat secara langsung bahwa adanya terbentuk kabut halus disekitar tusukan pada media SIM. Hal tersebut menandakan bahwa kedelapan isolat bakteri memiliki kemampuan dalam pergerakan atau motilitas.

Uji SCA (Simmon Citrate Agar)

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh hasil seperti yang ditunjukkan pada tabel 6 dapat dilihat bahwa

tidak semua isolat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. Hasil uji SCA menunjukkan 3 isolat dengan kode isolat K1P6B3, K2P5B7 dan K2P6B8 bersifat positif yang menandakan bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. Sebanyak 5 isolat dengan kode isolat K1P4B1, K1P5B2, K1P6B4, K2P4B5, dan K2P5B6 bersifat negatif yang menandakan bahwa bakteri tidak menggunakan sitrat sebagai sumber karbon.

Isolat bakteri yang bersifat positif media akan berubah warna menjadi biru sedangkan isolat yang bersifat negatif tidak ada perubahan warna pada media (tetap berwarna hijau). Kelompok bakteri yang menggunakan ammonium dihidrogen fosfat sebagai sumber nitrogen tunggal dan natrium sitrat sebagai sumber karbon tunggal akan tumbuh pada media sitrat agar (*simmons*). Mikroorganisme seperti itu menggunakan nitrogen dari garam ammonium dalam medium, memecahnya menjadi ammonia. Hal ini menyebabkan media menjadi alkali (basa), perubahan pH media dideteksi oleh bromtimol blue sehingga media berubah dari hijau menjadi biru. Peningkatan pH ini dilatarbelakangi adanya senyawa ammonia berupa hasil pemecahan garam *ammonium* (Husain & Wardhani, 2021).

Identifikasi *genus* bakteri

Genus Proteus

Indeks emulsifikasi bakteri *genus Proteus* yang diisolasi dari limbah cair kelapa sawit kolam *An-aerob* PT. Perkebunan Aek Loba yaitu kode isolat bakteri K1P4B1 sebesar 37,18% dan K1P6B4 sebesar 38,7% bertanda bakteri mempunyai kemampuan menghasil *biosurfaktan* hal ini sesuai dengan Utamy *et al.*, (2021) yang menemukan *Proteus* yang diisolasi dari air kolam *An-aerob* IPAL Industri Minyak Kelapa Sawit PT. Eka Dura Indonesia, Provinsi Riau sebagai bakteri penghasil *biosurfaktan* dengan indeks emulsifikasi 36,7%. Penelitian Wastewater *et al.*, (2021) menemukan bakteri *genus Proteus* yang diisolasi dari limbah cair Rumah Potong Hewan (RPH) dengan indeks emulsifikasi sebesar 65,7%. Hal ini menunjukkan bahwa pencemaran minyak dalam air dapat dikurangi oleh bakteri *Proteus*.

Berdasarkan buku *Bergey's Manual of Determinate Bacteriology Seventh Edition* dikatakan bahwa bakteri *genus Proteus* adalah bakteri batang lurus gram negatif. Motil melalui peritrichous, kadang-kadang sangat banyak

flagella. Umumnya motil aktif pada suhu 25°C, tetapi pada 37°C motilitas mungkin lemah atau tidak ada. *Genus Proteus* terdiri dari dua spesies (*Proteus vulgaris* dan *Proteus mirabilis*) menghasilkan koloni amoeboid yang menunjukkan fenomena berkerumun pada media padat tanpa garam empedu. Glukosa dan biasanya berbagai karbohidrat lain tetapi bukan laktosa difermentasi dengan produksi asam dan biasanya terlihat gas namun pada satu spesies lainnya biasanya menghasilkan hanya asam.

Genus Bacillus

Bacillus bersifat fakultatif *An-aerob*, katalase positif, dapat memfermentasikan sukrosa, laktosa dan glukosa, menghasilkan gas dan H₂S dalam metabolismenya, ada yang tak mengaplikasikan sitrat sebagai sumber karbon dan memiliki sifat motil (Utari dan Sayuti, 2019). Berdasarkan penelitian ini diperoleh indeks emulsifikasi bakteri *genus Bacillus* yang diisolasi dari limbah cair kelapa sawit kolam *An-aerob* PT. Perkebunan Aek Loba yaitu kode isolat bakteri K2P4B5 sebesar 36,36% dan K2P5B6 sebesar 35% bertanda bakteri mempunyai kemampuan menghasil *biosurfaktan* hal tersebut selaras dengan Wastewater *et al.*, (2021) menemukan *Bacillus* yang diisolasi dari limbah cair perbengkelan sebagai bakteri penghasil *biosurfaktan* dengan indeks emulsi 52,1%. Hal ini membuktikan bahwa bakteri *genus Bacillus* dapat mendegradasi limbah minyak di perairan. Namun, penelitian Wastewater *et al.*, (2021) memperoleh indeks emulsifikasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan indeks emulsifikasi yang ditemukan pada penelitian ini. Hal ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor antara lain adanya senyawa *Hidrofobik* dan *hidrofilik*, pH, suhu dan komponen atau molekul dari *biosurfaktan* itu sendiri.

Genus Pluralibacter

Indeks emulsifikasi bakteri *genus Pluralibacter* yang diisolasi dari limbah cair kelapa sawit kolam *An-aerob* PT. Perkebunan Aek Loba adalah kode isolat bakteri K1P6B3 sebesar 37,5% dan K2P5B7 sebesar 43%. Hasil identifikasi bakteri menunjukkan bahwa isolasi bakteri kode K1P6B3 dan K2P5B7 termasuk kedalam *genus Pluralibacter* berdasarkan ciri-ciri koloni bakteri berbentuk bulat, tepian rata, ketinggian berbentuk cembung, dari uji pewarnaan gram bakteri termasuk gram batang negatif, uji katalase positif,

mampu memfermentasikan glukosa tetapi namun tak dapat memfermentasikan sukrosa dan laktosa, sitrat positif, dan motilitas positif.

Genus Enterobacter

Berdasarkan hasil identifikasi bakteri menunjukkan bahwa isolasi bakteri kode K1P5B2 dan K2P6B8 merupakan bakteri *genus Enterobacter*. Bakteri *genus Enterobacter* memiliki karakteristik koloni dengan bentuk bulat mempunyai tepian bergelombang, dengan ketinggian cembung, sel bakteri ada yang berbentuk batang (*basil*) dan bulat (*coccus*) gram negatif, katalase positif yang dapat dilihat adanya gelembung-gelembung yang dihasilkan oleh bakteri setelah diberi larutan H₂O₂ 3%, pada uji simon sitrat positif. Untuk uji gula bakteri ini mampu memfermentasi glukosa, laktosa, sukrosa dan bersifat motil. Pada penelitian ini indeks emulsifikasi bakteri *genus Enterobacter* yang diisolasi dari limbah cair kelapa sawit kolam *An-aerob* PT. Perkebunan Aek Loba adalah kode isolat bakteri K1P5B2 sebesar 42,55% dan K2P6B8 sebesar 36,47%.

Identifikasi Molekuler Bakteri (PCR/Polymerase Chain Reaction)

Berdasarkan rangkaian DNA yang diperpleh dan kemudian dibandingkan dengan kode BLAST maka diperoleh informasi bahwa bakteri dengan kode isolat K2P5B7 adalah bakteri *spesies Enterobacter gergoviae* atau saat ini dikenal dengan *Pluralibacter gergoviae*. Berikut pohon Filogenetik bakteri *Pluralibacter gergoviae* yang diperoleh dari Identifikasi Molekuler (PCR/Polymerase Chain Reaction). *Pluralibacter* merupakan *genus* bakteri umum gram negatif, fakultatif *An-aerobik*, berbentuk batang, tidak membentuk spora. Beberapa strain bakteri ini bersifat patogen dan menyebabkan infeksi *oportunistik host immunocompromised*. Saluran kemih dan pernapasan adalah organ tubuh yang paling sering terinfeksi oleh bakteri ini. *Enterobacter gergoviae* pertama kali diusulkan sebagai spesies baru pada tahun 1980. Nama spesies ini berasal dari dataran tinggi Gergovie, yang terletak di dekat Rumah Sakit Universitas Clermont-Ferrand Brady *et al.*, (2013). Pada tahun 2013 spesies tersebut direklasifikasi ke dalam *genus* baru yaitu *Pluralibacter* dan merupakan spesies tipe untuk *genus* tersebut Brenner *et al.*, (1980).

Jenis biosurfaktan yang dihasilkan

Biosurfaktan Berat Molekul Tinggi ialah *biosurfaktan* polimerik yang didelegasikan dan pada umumnya memiliki aksi pengemulsi yang efektif, tetapi tidak mengurangi tekanan permukaan sebanyak *biosurfaktan* berat molekul rendah. Pada umumnya, struktur *biosurfaktan* menggabungkan bagian hidrofilik yang terdiri dari asam amino atau anion dan *kation peptide, mono, di-, atau polisakarida* dan bagian *Hidrofobik* yang terdiri dari turunan lemak yang jenuh atau tidak jenuh (Hidayah *et al.*, 2018).

Lingkungan

Menurut Waluyo (2010) organisme mikroskopis yang mungkin dapat membuat *biosurfaktan* adalah mikroorganisme *Mesofilik* yang hidup antara 15°C- 55°C dengan suhu ideal 25°C-40°C (Kamallia *et al.*, 2021). Berdasarkan data yang diperoleh dari lapangan hasil pengukuran suhu pada air kolam *An-aerob* 1 dan kolam *An-aerob* 2 masing-masing adalah 33,2°C dan 32,1°C. Hasil tersebut menjelaskan bahwa bakteri yang hidup di limbah cair tersebut dapat dikategorikan ke dalam kelompok *Mesofilik* (Firmansyah *et al.*, 2021). Suhu di mana bakteri penghasil *biosurfaktan* dapat hidup sangat ideal. Hal ini sesuai penilaian Sopiah *et al.* (2011) dalam publikasi Utamy *et al.* (2021) yang menyatakan bahwa suhu tidak berpengaruh terhadap aktivitas *biosurfaktan* untuk mengemulsi senyawa *Hidrofobik*, sehingga *biosurfaktan* dapat mengemulsi senyawa *Hidrofobik* pada suhu 80°C dan suhu ruang.

Nutrisi

Siklus biodegradasi itu sendiri dipengaruhi oleh suhu, pH, kadar air, dan suplemen yang dapat diakses. Nutrisi merupakan faktor utama dalam sintesis dan pertumbuhan sel serta aktivitas enzim bakteri yang mengurai polutan. Karbon, nitrogen, dan fosfor adalah nutrisi penting yang dibutuhkan mikroorganisme. Karbon pada dasarnya merupakan kebutuhan bagi semua mikroorganisme sebagai sumber energi. Aktivitas pertumbuhan mikroorganisme dipengaruhi oleh senyawa penting dalam sel yang mengandung nitrogen dan fosfor. Untuk pertumbuhan bakteri yang optimal, ketiga unsur ini harus ada dalam proporsi yang tepat (Wulan *et al.*, 2016).

Kesimpulan

Genus bakteri penghasil *biosurfaktan* yang ditemukan pada Limbah Cair Kelapa Sawit Kolam *An-aerob* di PT. Perkebunan Aek Loba yaitu terdiri dari 2 isolat bakteri *genus Proteus*, 2 isolat bakteri *genus Bacillus*, 2 isolat bakteri *genus Pluralibacter* dan 2 isolat bakteri *genus Enterobacter*. Spesies bakteri yang memiliki indeks emulsifikasi penghasil *biosurfaktan* tertinggi adalah bakteri *Pluralibacter gergoviae* dengan kode isolat bakteri K2P5B7 dengan indeks emulsifikasi sebesar 43%.

Ucapan Terima Kasih

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan dan arahnya, sehingga penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik.

Referensi

- Amilia, A., Tyas, M. N., Juliani, A., & Yulianto, A. (2013). Isolasi Dan Seleksi Bakteri Penghasil *Biosurfaktan* Yang Terdapat Di Dalam Deposit Lilin Pada Pipa Transmisi Minyak Mentah. *Jurnal Khazanah*. 5(2): 49–61. DOI: <https://doi.org/10.20885/khazanah.vol5.is2.art5>
- Brady, C., Ilse, C., Stephanus, V., Teresa, C dan Paul, D. V. (2013). *Systematic and Applied Microbiologi*. 309-319
- Ed-Har, A. A., Widyastuti, R., & Djajakirana, G. (2017). Isolasi dan Identifikasi Mikroba Tanah Pendegradasi Selulosa dan Pektin dari *Rhizosfer Aquilaria Malaccensis*. *Jurnal Buletin Tanah Dan Lahan*. 1(1): 58–64. URL: <http://journal.ipb.ac.id/index.php/btanah/article/view/17692>
- Fazli, R. R., Hanum, L., Alvionita, M., & Akbar, S. A. (2022). Variasi Sumber Karbon Terhadap Produksi *Biosurfaktan* Oleh Bakteri *Halofilik* Isolat Tambak Garam Kajhu Aceh Besar. *Jurnal Lantanidak*. 10(2): 75-85. DOI: <http://dx.doi.org/10.22373/lj.v10i1.14108>
- Firmansyah, A., M Hasbi dan Sampe Harahap. (2021). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Penghasil *Biosurfaktan* Pada Kolam Anaerob IPAL Industri Minyak Kelapa, *Jurnal Sumberdaya dan Lingkungan Akuatik*. 2(1): 204-207. URL: <https://jsla.ejournal.unri.ac.id/index.php/ojs/article/view/33>
- Hidayah, N., Irene, M., Siswa, S., Usman, P., Evi, S., Mardiana, C.P., Agutin, K.W., Umi, P., Ignatius, S dan Suasana, R. (2018). *Mikrobiologi Industri Pertanian*. Malang: UB Press.
- Kamallia, S., M. Hasbi dan Budijono. (2021). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penghasil *Biosurfaktan* Asal Limbah Cair Tahu UD. Dika Putra, Provinsi Riau. *Jurnal Ilmu Perairan*. 9(1): 16-18. URL: <https://jipas.ejournal.unri.ac.id/index.php/JIPAS/article/download/4659/1677>
- Rini, C. S., & Rohmah, J. (2020). *Bakteriologi Dasar*. UMSIDA PRESS.
- Sabbathini, G. C., Pujiyanto, S., Wijanarka, & Lisdiyanti, P. (2017). Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Genus Sphingomonas* dari Daun Padi (*Oryza sativa*) di Area Persawahan Cibinong. *Jurnal Akademika Biologi*. 6(1): 59–64. URL: <https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/biologi/article/view/19523>
- Silalahi, L. F., Mukarlina, M., & Rahmawati, R. (2020). Karakterisasi Dan Identifikasi Geus Bakteri *Endofit* Dari Daun Dan Batang jeruk Siam (*Citrusnobilisvar. Microcarpa*) Sehat Di Desa Anjungan Kalimantan Barat. *Jurnal Protobiont*. 9(1): 26–29. DOI: <http://dx.doi.org/10.26418/protobiont.v9i1.40064>
- Utamy, G., M. Hasbi dan Purwanto, E. (2021). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Penghasil *Biosurfaktan* Pada Air Kolam Anaerob IPAL Industri Minyak Kelapa Sawit. *Jurnal Sumberdaya dan Lingkungan Akuatik*. 2(1):232-233. URL: <https://jsla.ejournal.unri.ac.id/index.php/ojs/article/view/38>
- Utari, M., & Sayuti, I. (2018). Isolation and Identification of Bacteria Palm Oil Mill Effluent At Lirik District and Potential Worksheets Design for High School Biology Potensinya Sebagai Rancangan Lembar Kerja. *Jurnal Online Mahasiswa*, 6(2): 1–14. URL:

- <https://jom.unri.ac.id/index.php/JOMFKIP/article/view/24695>
- Waluyo, Lud. (2018). *Bioremediasi Limbah*. Malang: UMM Press
- Wastewater, W., Ainul, A., Hasbi, M., dan Purwanto, E. (2021). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penghasil *Biosurfaktan* Asal Limbah Cair Perbengkalan Isolation and Identification of Biosurfactant Producing Bacteria From. 9(1): 31–37. DOI: <http://dx.doi.org/10.31258/jipas.9.1.p.31-37>
- Wulan, P. PDK., Misri, G, Berly, A dan Bustomy, A. (2016). Penentuan Rasio Optimum C:N:P Sebagai Nutrisi Pada Proses Biodegradasi BenzenaToluena dan ScaleUp Kolom *Bioregenerator*. Departemen Tekni Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia. URL: <https://lib.ui.ac.id/m/detail.jsp?id=20247494&lokasi=lokal>
- Yolanda, N., M Hasbi dan Budijono. (2019). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Penghasil *Biosurfaktan* Di Air Limbah Kolam Anaerob IPAL Industri Minyak Kelapa. *Jurnal Sumberdaya dan Lingkungan Akuatik*. 3-4. URL: <https://jom.unri.ac.id/index.php/JOMFAP/ERIKA/article/viewFile/25565/24768>
- Zuraidah, Wahyuni, D., & Astuty, E. (2020). Karakteristik Morfologi dan Uji Aktivitas Bakteri Termofilik dari Kawasan Wisata IeSeuum (Air Panas). *Jurnal Ilmu Alam Dan Lingkungan*. 11(2):40–47. DOI: <https://doi.org/10.20956/jal.v11i2.10200>