

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENDEGRADASI LIPID (LEMAK) PADA BEBERAPA TEMPAT PEMBUANGAN LIMBAH DAN ESTUARI DAM DENPASAR

I. B. G. Darmayasa

Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, F MIPA, Universitas Udayana

Abstract

Research on isolation and identification of lipid degrading bacteria in some sewage disposing sites and Denpasar Estuary Dam was carried out in April, 2006. This research aims to identify fat degrading bacteria on those areas.

Isolation of bacteria was undertaken using thinning methods (plating methods) grown at sierra media. Colonies observed on the media after incubation on the temperature of 30-37⁰C for 24 hours were identified based on macroscopic observations, biochemical tests, microscopic and cross tests to ensure that the bacteria identified was absolutely lipid degrading bacteria.

*The research result showed that number of lipid degrading bacteria isolates obtained from three sampling sites were 7 isolates. Four isolates were obtained from samples taken on BTDC Lagoons, the samples of which contains *Bacillus sp.* (A), *Bacillus sp.* (B), *Klebsiella sp.* and *Staphylococcus sp.*, 2 isolates were gotten from samples found in estuary DAM with bacteria of *Bacillus sp.* (A) and *Klebsiella sp.* and 1 isolate was gotten from slaughterhouse waste disposal with *Klebsiella sp.* bacteria. Cross test results carried out on the seven isolates showed that two genera of bacteria only, namely: *Bacillus sp.* and *Pseudomonas sp.*, which were viable after inoculation and 24 hours of incubation time.*

Key word: lipid degrading bacteria, siera media, isolate.

1. Pendahuluan

Berbagai aktivitas seperti agroindustri, peternakan, pariwisata, dan pabrik pengolahan hasil pertanian, sudah tentu menghasilkan produk samping atau limbah yang dapat mencemari lingkungan. Limbah yang dihasilkan umumnya mengandung konsentrasi bahan organik yang sangat tinggi yang terdiri dari lemak, karbohidrat protein dan selulosa atau lignoselulosa. Lipid (lemak) adalah kelompok senyawa heterogen yang berkaitan baik secara actual maupun potensial dengan asam lemak. Sifat dari lemak secara umum tidak larut dalam air, sehingga limbah yang mengandung lemak yang terdapat dalam badan air mempunyai dampak yang cukup besar dalam mengganggu ekosistem perairan. Lapisan lipid yang ada pada permukaan perairan akan menghalangi masuknya cahaya dalam badan air sehingga proses fotosintesis berlangsung terhambat dengan demikian kadar oksigen akan rendah yang akan menyebabkan organisme aerobik akan mati (Tresna, 1991)

Usaha yang dilakukan sebelum limbah dibuang ke lingkungan adalah dengan melakukan pengolahan (Fardia., 1992; Gintings, 1995) Dalam mengembangkan suatu system pengolahan limbah yang tepat guna maka terlebih dahulu harus diketahui sifat-sifat suatu limbah. Pemahaman ini penting mengingat system pengolahan suatu jenis limbah akan berbeda dengan jenis limbah yang lain. Saat ini sudah dikenal system pengolahan dengan menggunakan organisme hidup, yang dikenal dengan system pengolahan secara biologis yang penerapannya sangat ramah lingkungan (Suryadipura, 2001). Menurut Feliatra (1996) dalam Dharmawibawa (2004, metode biologi atau biodegradasi oleh mikroorganisme merupakan salah satu cara yang tepat, efektif dan hampir tidak ada pengaruh sampingannya pada lingkungan karena tidak menghasilkan racun atau *blooming* karena mikroba ini akan mati seiring dengan habisnya minyak.

Agar pengolahan limbah berlangsung secara efektif khususnya

limbah yang banyak mengandung lemak maka langkah awal yang perlu dilakukan adalah mencari mikroorganisme yang memiliki kemampuan dalam mendegradasi lemak. Pada penelitian ini akan dilakukan isolasi dan identifikasi bakteri pendegradasi lemak (lipid) yang dilakukan dengan mengambil sample dilokasi pembuangan limbah.

2. Metode Penelitian

Sampel air dan sedimen diambil dari tempat penampungan limbah dari rumah Pemotongan Hewan Pasangaran, BTDC Lagoon Nusa Dua dan Estuari DAM. Pengambilan dilakukan dengan cara aseptik menggunakan botol dan kantong plastic steril, selanjutnya sapel dibawa ke laboratorium untuk dianalisis.

Tahap pertama dilakukan adalah mengisolasi bakteri pendegradasi lipid dengan menggunakan metode seri pengenceran (*Plating Method*) yang dilakukan dengan mengambil sebanyak 10 ml sample dimasukkan ke dalam Erlenmeyer yang berisi 90 ml larutan fisiologis sehingga didapat pengenceran 10^{-1} , untuk mendapatkan pengenceran 10^{-2} dilakukan dengan mengambil 1ml dari pengenceran 10^{-1} dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml larutan fisiologis, demikian seterusnya sampai dibuat pengenceran 10^{-6} . Masing-masing seri pengenceran diambil 1ml dimasukkan kedalam cawan Petri yang telah berisi media Siera kemudian diratakan dengan menggunakan hoky stick. Lalu diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 30°C (Tortora *et all*) Koloni yang tumbuh diamati secara makroskopis meliputi bentuk, ukuran, tekstur dan warna. Berdasarkan perbedaan penampilan koloni lalu dilakukan tahap pemurnian sehingga akan diperoleh sejumlah isolat.

Isolate yang didapat selanjutnya dilakukan tahap identifikasi yang meliputi pengamatan mikroskopis dan uji biokimia. mengacu pada pedoman identifikasi bakteri (Bergey's Manual Determinative Bacteriology tahun 1948) Pada pengamatan mikroskopis didahului dengan melakukan pewarnaan gram, sehingga dapat dilihat bentuk-bentuk bakteri dan kelompok bakteri gram positif atau negative. Sedangkan uji biokimia

meliputi Uji triple sugar, uji sulfide Indol Motility, uji penggunaan ctrate, Uji gula-gula, uji katalase, uji oksidase, uji MacConkey Agar, dan uji balik dimana bakteri yang sudah diidentifikasi disterak kedia media sierra yang telah dilapisi Tween 80 pada permukaan atas media. Pada uji balik ini dikatakan menunjukkan hasil positif apabila bakteri mampu tumbuh pada media tersebut.

3. Hasil dan Pembahasan

Secara umum dari ketiga lokasi pengambilan sample yaitu di RPH Rumah Pemotongan Hewan), BTDC lagoon, dan estuari DAM sungai Badung diperoleh beberapa bakteri pendegradasi lipid, walaupun diantaranya ada yang menunjukkan adanya kesamaan genus. Ciri dari masing-masing genus yang diperoleh dari ketiga tempat pengambilan sample disajikan selengkapnya pada lampiran 1. Pada tempat pengambilan sample di BTDC Lagoon ditemukan lebih banyak isolate jika dibandingkan dengan dikedua tempat pengambilan sample yang lain. Hal ini menunjukkan keberadaan bakteri pendegradasi lipid didaerah BTDC Lagoon lebih tinggi tingkat keragamannya, karena BTDC Lagoon merupakan tempat penampungan dari berbagai jenis limbah hotel yang digunakan oleh mikroorganisme sebagai media untuk pertumbuhannya. Menurut Parmayoni (1999) dan Suryadipura (2001), limbah BTDC lagoon berasal dari aktivitas dapur yang memberi kontribusi cukup besar adanya limbah organik seperti lipid, disamping limbah dari kamar mandi, laundry dan kolam renang. Hasil Uji biokimia dari isolate yang didapat dari sample BTDC lagoon diperoleh 4 isolat yaitu *Klebsiella* sp., *Staphylococcus* sp., *Bacillus* sp., (A) dan *Bacillus* sp. (B). Penggolongan kedua jenis bacillus ini dilakukan karena adanya perbedaan warna koloni, uji katalase dan uji motilitas walaupun pada uji yang lain menunjukkan kesamaan dalam menggolongkan bakteri tersebut sebagai bakteri Bacillus, lebih lengkapnya dapat dilihat pada table 1.

Hasil isolasi bakteri pendegradasi lipid yang diperoleh dari Estuari DAM hanya ditemukan dua isolate bakteri yaitu :*Klebsiella* sp. dan *Bacillus* sp. (C). Dari

hasil uji biokimia menunjukkan *Bacillus* yang ditemukan di Estuari DAM berbeda dengan *Bacillus* yang ditemukan di BTDC lagoon. *Bacillus* sp yang ditemukan disampel Estuari DAM yang diuji katalase menunjukkan hasil positif dan juga hasil positif ditunjukkan pada uji motility, yang tentunya berbeda dengan hasil uji kedua bakteri *Bacillus* sp yang ditemukan pada sample BTDC Lagoon (ditampilkan pada Tabel 2.). Perbedaan kondisi lingkungan mungkin merupakan factor penyebab adanya perbedaan jenis –jenis bakteri pendegradasi lipid. Jumlah isolate yang ditemukan di Estuari DAM lebih sedikit dibandingkan dengan BTDC Lagoon. Hal ini disebabkan air pada Estuari DAM sering mengalami sirkulasi sehingga lapisan lemak yang berada diperairan tidak menumpuk pada satu tempat dan terhanyut ke badan air yang lain. Harapan

semestinya di Estuari diperoleh lebih banyak jenis-jenis bakteri pendegradasi lipid karena dilokasi ini terjadi lebih banyak penumpukan berbagai bahan organic yang mampu dimanfaatkan oleh mikroorganisme. Akan tetapi pada sample Lumpur hanya ditemukan satu isolate bakteri pendegradasi lemak. Adanya bahan pencemar lain seperti limbah tekstil yang tertampung di Estuari DAM, juga merupakan factor penentu tingkat keragaman bakteri pendegradasi lipid. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada limbah tekstil diketahui mengandung bahan beracun seperti logam berat (As, Cd, Cr, Pb, Cu dan Zn), hidrokarbon terhalogenasi, zat warna dan tensioaktif (surfactans) yang dapat menekan kehadiran mikroba tertentu sehingga perannya diekosistem tersebut rendah (Anonim, 2006).

Tabel 1. Hasil Pengamatan makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia isolate bakteri pendegradasi lipid dari sample BTDC Lagoon.

Pengamatan/Uji Biokimia	Isolat Bakteri			
	Isolat 1	Isolat 2	Isolat 3	Isolat 4
Bentuk Koloni	Bulat, Pinggir Rata	Bulat, Pinggir Rata	Bulat, Pinggir Rata	Bulat, Pinggir Rata
Permukaan koloni	Halus Mengkilat	Halus Mengkilat	Halus Mengkilat	Halus Mengkilat
Warna Koloni	Putih Kekuningan	Orange	Putih	Putih
Gram	+	+	-	+
Bentuk Sel	Batang	Batang	Batang	Bulat
Blood Agar	Haemolitik Sedikit	Haemolitik	Non Haemolitik	Non Haemolitik
Glukosa	-	-	+	-
Laktosa	-	-	+	-
Sukrosa	-	-	+	-
Maltosa	-	-	+	-
Manitol	-	-	+	-
TSIA	m/m	k/m	k/k	m/m
Indol	-	-	-	-
H ₂ S	-	-	-	-
Motilitas	-	+	+	+
Simon Sitrat	-	-	+	-
Oksodase	-	-	-	-
Katalase	+	-	+	+
Uji Balik	+	+	+	-
Species	<i>Bacillus</i> sp. (A)	<i>Bacillus</i> sp. (B)	<i>Klebsiella</i> sp.	<i>Staphylococcus</i> sp.

Keterangan :

- k/k : Lereng Kuning / Dasar Kuning
- K/m : Lereng Kuning / Dasar Merah
- m/m : Lereng Merah / Dasar Merah

Jumlah isolate yang ditemukan pada sample RPH lebih sedikit dibandingkan dengan jumlah isolate yang ditemukan di BTDC Lagoon dan di Estuari DAM yaitu hanya isolate *Klebsiella* sp. Hasil uji biokimia bakteri ini tidak menunjukkan perbedaan dengan hasil uji bakteri

Klebsiella sp. yang ditemukan di tempat BTDC Lagoon dan Estuari DAM (lihat Tabel 3). Sedikitnya variasi limbah yang ada pada tempat penampungan limbah di RPH mungkin merupakan factor penyebab sedikitnya perolehan jenis bakteri pendegradasi lipid ditempat tersebut.

Tabel 2. Hasil Pengamatan makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia isolate bakteri pendegradasi lipid dari sample Estuari DAM.

Pengamatan/UjiBiokimia	Isolat Bakteri	
	Isolat 1	Isolat 2
Bentuk Koloni	Bulat, Pinggir Rata	Bulat, Pinggir Rata
Permukaan koloni	Halus Mengkilat	Halus Mengkilat
Warna Koloni	Putih	Putih
Gram	+	-
Bentuk Sel	Batang	Batang
Blood Agar	Haemolitik	Non Haemolitik
Glukosa	-	+
Laktosa	-	+
Sukrosa	-	+
Maltosa	-	+
Manitol	-	+
TSIA	k/m	k/k
Indol	-	-
H ₂ S	-	-
Motilitas	+	+
Simon Sitrat	-	+
Oksodase	-	-
Katalase	+	+
Uji Balik	+	-
Species	<i>Bacillus</i> sp. (A)	<i>Klebsiella</i> sp.

Keterangan :

- k/k : Lereng Kuning / Dasar Kuning
- K/m : Lereng Kuning / Dasar Merah
- m/m : Lereng Merah / Dasar Merah

Tingkat keragaman jenis bakteri pendegradasi lipid dipengaruhi juga oleh factor-faktor abiotik. Menurut Atlas dan Bartha (1992) dalam Dharmawibawa (2004), degradasi lipid ditentukan oleh factor seperti: komposisi kimia hidrokarbon, temperature, oksigen, nutrisi dan derajat keasaman (pH). Lebih lanjut

dikatakan keberadaan nitrogen dan fosfor sangat penting karena mikroorganismememerlukannya untuk membentuk biomassa. Pada lapisan lipid terdapat sejumlah karbon yang menunjang pertumbuhan mikroba tetapi konsentrasi nitrogen dan fosfor tetap menjadi faktor pembatas.

Tabel 3. Hasil Pengamatan makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia isolate bakteri pendegradasi lipid dari sample Rumah Pemotongan Hewan (RPH).

Pengamatan/Uji Biokimia	Isolat Bakteri
Bentuk Koloni	Bulat, Pinggir Rata
Permukaan koloni	Halus Mengkilat
Warna Koloni	Putih
Gram	-
Bentuk Sel	Batang
Blood Agar	Non Haemolitik
Glukosa	+
Laktosa	+
Sukrosa	+
Maltosa	+
Manitol	+
TSIA	k/k
Indol	-
H ₂ S	-
Motilitas	+
Simon Sitrat	+
Oksodase	-
Katalase	+
Uji Balik	-
Species	<i>Klebsiella</i> sp.

Keterangan :

- k/k : Lereng Kuning / Dasar Kuning
- K/m : Lereng Kuning / Dasar Merah
- m/m : Lereng Merah / Dasar Merah

Uji balik yang dilakukan terhadap isolate diperoleh dari ketiga tempat sample yang diambil menunjukkan bahwa hanya dari genus *Bacillus* (*Bacillus* sp. (A), *Bacillus* sp. (B) dan *Bacillus* sp. (C)) yang mampu tumbuh kembali pada media Sierra yang dilapisi Tween 80. Menurut Dharmawibawa (2004) bahwa, *Bacillus* merupakan mikroorganisme yang potensial dalam mendegradasi minyak solar. Bakteri ini kemungkinan juga mampu hidup dan memanfaatkan limbah lipid yang ada pada tempat pembuangan limbah di BTDC Lagoon dan Estuari DAM. Menurut Pikoli dkk. (2000) adapun jenis-jenis bakteri dari genus *Bacillus* yang mampu mendegradasi minyak adalah *Bacillus polymixa*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus stearothermophyllus*, *Bacillus brevis*, dan *Bacillus coagulans*. Lain halnya isolate *Klebsiella* sp. dan *Staphylococcus* sp. setelah dilakukan uji balik tidak menunjukkan adanya pertumbuhan. Hal ini mungkin disebabkan

oleh konsentrasi minyak yang diberikan pada permukaan media Siera bersifat menekan pertumbuhan dari bakteri tersebut. Menurut Nwekw dan Okpokwasili (2003) dalam Dharmawibawa (2004), kandungan 20% minyak dan 1,6% glukosa bersifat toksik atau menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus* sp. Untuk mendapatkan bakteri yang mempunyai kemampuan lebih cepat dalam mendegradasi minyak atau lemak maka dalam media perlu ditambahkan bahan pencemar (lemak atau minyak), urea, sebagai sumber N dan gula untuk membantu pertumbuhan mikroba sehingga jumlahnya cukup untuk mendegradasi lemak kemudian diatur kondisi hidupnya sesuai dengan kondisi asalnya.

4. Simpulan dan Saran

4.1 Simpulan

- 1) Jumlah isolat bakteri pendegradasi lipid yang diperoleh dari ketiga tempat pengambilan sample yaitu 7 isolat. Masing-masing 4 isolat diperoleh dari sample BTDC Lagoon dengan jenis bakterinya adalah *Bacillus* sp. (A), *Bacillus* sp. (B), *Klebsiella* sp. dan *Staphylococcus* sp., 2 isolat diperoleh dari sample Estuari DAM dengan jenis bakterinya adalah *Bacillus* sp. (A) dan *Klebsiella* sp. dan 1 isolat yang diperoleh dari pembuangan limbah Rumah Pemotongan Hewan (RPH) yaitu dari jenis *Klebsiella*;
- 2) Hanya bakteri *Bacillus* dan *Pseudomonas* yang mampu tumbuh kembali pada uji balik;

4.2 Saran

- 1) Perlu dilakukan penelitian identifikasi bakteri pendegradasi lemak sampai pada tingkat species;
- 2) Bakteri yang telah diidentifikasi sangat dimungkinkan untuk dicoba mengenai kemampuannya dalam mendegradasi lemak dalam skala laboratorium.

Daftar Pustaka

Anonim. 2006. *Pengelolaan dan Pemanfaatan Limbah Tekstil*. Available at: [http:// www.menlh.go.id/usaha-kecil/index-view.php?sub-7](http://www.menlh.go.id/usaha-kecil/index-view.php?sub-7) Opened: 17 September 2006

Breed, Se., E.G.D. Murray and A.P. Hitchens., 1948. *Bergey's Manual Determinative Bacteriology*. The William and Wilkins Company, Baltimore.

Dharmawibawa, I.D.. 2004. *Isolasi, Identifikasi dan Uji Kemampuan Bakteri Pengurai Minyak Solar dari Perairan Pelabuhan Benoa Bali*. Universitas Udayana, Bali.

Fardiaz, S.. 1992. *Polusi Air dan Udara*. Karnisius, Bogor.

Ginting, P.. 1995. *Mencegah dan Mengendalikan Pencemaran Industri*. Pustaka Sinar. Harapan, Jakarta.

Parwanayoni, M.S. 1999. *Penanganan Limbah Cair Hotel dengan Sistem Kolam Aerasi pada BTDC (Bali Tourism Development Cooperation) di Nusa Dua Bali*. UGM, Yogyakarta.

Pikoli, M.R., Pingkan, A., Dea, I.A.. 2000. *Isolasi Bertahap dan Identifikasi Bakteri Termofilik Pendegradasi Minyak Bumi dari Sumur Bangko*.

Available at: [http://72.14.203.104/srch?q=cache:MyKZ551QcGcJ:www.lp.itb.acid/product/vol32no2/Mega/mega.html+pendegradasi minyak&hl=id](http://72.14.203.104/srch?q=cache:MyKZ551QcGcJ:www.lp.itb.acid/product/vol32no2/Mega/mega.html+pendegradasi+minyak&hl=id). Opened: 6 November 2005.

Suryadipura, P. 2001. *Lingkungan Hidup Permasalahan dan Pengelolaannya*. Universitas Udayana, Denpasar

Tortora, G.J., Berdell R. F. and Christine L.C.. 2001. *Microbiology*. 7th Edition. An imprint of Addison Wesley Longman, Inc., New York

Tresna, S. 1991. *Pencemaran Lingkungan*. Rineka Cipta, Jakarta.