

JURNAL METAMORFOSA

Journal of Biological Sciences

eISSN: 2655-8122

<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

Potensi Bakteri Sebagai Biodegradasi Lemak Dan Minyak Pada Lingkungan Yang Tercemar Limbah Domestik

Potential Of Bacteria As Fat And Oil Biodegradation In Environment Contaminated With Domestic Waste

Retno Kawuri^{1*} Ida Bagus Gede Darmayasa²

^{1,2}Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, Jalan Raya Kampus Unud, Bukit Jimbaran, Badung, Bali, Indonesia.

*Email: retnokawuri@unud.ac.id

INTISARI

Pencemaran limbah minyak dan lemak ke lingkungan perairan yang berasal dari pengolahan makanan industri, restoran dan dapur atau oleh tumpahan minyak yang tidak disengaja saat ini semakin banyak ditemukan. Biodegradasi menggunakan konsorsium bakteri dapat menjadi salah satu cara yang efektif untuk mengatasi hal tersebut. Tujuan penelitian untuk mengisolasi dan mengidentifikasi strain bakteri dari limbah minyak dan lemak yang mampu melakukan biodegradasi serta potensi dari bakteri pendegradasi dalam mendegradasi minyak dan lemak secara *invitro*. Sampel diambil dari limbah minyak dan lemak. Pada seluruh sampel dilakukan teknik pengayaan diikuti dengan isolasi strain bakteri untuk menentukan strain mana yang mampu mendegradasi minyak dan lemak secara *in vitro*. Identifikasi bakteri menggunakan Identifikasi kit BBL Crystal System. Penghitungan total bakteri dilakukan dengan menggunakan metode pengenceran. Hasil menunjukkan ditemukan 3 strain bakteri pendegradasi minyak dan lemak yaitu *Bacillus licheniformis*, *B. coagulans* dan *Pseudomonas diminuta*. Konsorsium dari ketiga jenis bakteri tersebut mampu mendegradasi limbah minyak dan lemak dengan total bakteri 624×10^5 CFU/ml hingga 816×10^5 CFU/ml dengan kontrol tanpa penambahan konsorsium bakteri yaitu sebesar 56×10^1 CFU/ml. Total bakteri pada berbagai limbah perlakuan dengan konsorsium bakteri berbahan dasar molase pada uji secara *invitro* menunjukkan kemampuan hidup dan berkembang dari konsorsium bakteri yang cukup tinggi yaitu 292×10^4 CFU/ml hingga 904×10^4 CFU/ml. Bakteri yang ditemukan mempunyai kemampuan mendegradasi minyak dan lemak yang bekerja secara sinergistik. Manfaat dari penelitian ini bakteri yang telah ditemukan dapat digunakan sebagai starter pengolahan limbah lemak dan minyak di lingkungan yang tercemar limbah lemak dan minyak domestik.

Kata kunci: konsorsium bakteri, biodegradasi, limbah minyak dan lemak

ABSTRACT

The contamination of waste oil and grease to the aquatic environment from industrial food processing, restaurants and kitchens or by accidental oil spills is increasingly being found. Biodegradation using a consortium of bacteria can be an effective way to overcome this. The aim of this research was to isolate and identify bacterial strains from waste oil and grease that are capable of biodegradation and the potential of degrading bacteria to degrade oil and grease *in vitro*. Samples were taken from waste oils and fats. Enrichment techniques were carried out for all samples followed by isolation of bacterial strains to determine which strains could degrade oil and fat *in vitro*. Identification of bacteria using the identification kit BBL Crystal System. The total bacteria count was carried out using the dilution method.

The results showed that there were 3 strains of oil and fat degrading bacteria, namely *Bacillus licheniformis*, *B. coagulant* and *Pseudomonas diminuta*. The consortium of the three types of bacteria was able to degrade waste oil and fat with a total of 624×10^5 CFU / ml to 816×10^5 CFU / ml bacteria with a control without the addition of a bacterial consortium which was 56×10^1 CFU / ml. The total bacteria in various treatment wastes with a consortium of bacteria based on molasses in the invitro test showed the ability to live and develop from a fairly high bacterial consortium, namely $29^2 \times 10^4$ CFU / ml to $90^4 \times 10^4$ CFU / ml. The bacteria found had the ability to degrade working oils and fats. synergistically. The benefit of this research is that bacteria that have been found can be used as a starter for processing waste fats and oils in environments contaminated with domestic waste fats and oils.

Keyword: bacterial consortium, biodegradation, oils and fat waste

PENDAHULUAN

Limbah minyak dan lemak yang berasal dari dapur, restoran, maupun industri makanan yang di buang ke lingkungan baik di sungai maupun daratan merupakan masalah yang penting saat ini. Pada lingkungan alami pencemaran limbah minyak dan lemak dapat mengakibatkan kematian pada ikan, hewan, perairan, tanaman, penurunan laju transfer oksigen dan meningkatnya kandungan oksigen terlarut (Darby *et al.*, 2005). Aktifitas mikroorganisme aerob dan anaerob yang bertanggung jawab terhadap pengolahan limbah cair juga terganggu dengan adanya kandungan lemak pada limbah. Hal tersebut dapat mengakibatkan pengurangan laju transfer oksigen untuk mikroorganisme anaerob dan efisiensinya juga dapat berkurang karena pengurangan pengangkutan substrat yang dapat larut ke biomassa bakteri (Maan *et al.*, 2015). Konstituen utama limbah lemak adalah lemak hewan dan minyak sayur serta kombinasi dari gliserol dan asam lemak bebas (Phong *et al.*, 2014) Bakteri dan jamur yang diketahui memiliki kemampuan dalam mendegradasi lemak antara lain *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Acinetobacter baumannii*, *Baccillus megaterium*, *Baccillus cereus*, *Fussarium verticilloide*, dan *Candida tropicalis* (Ugochukwu *et al.*, 2008). Dari hasil pengayaan isolat lapang di daerah sumur minyak Cepu, telah diperoleh konsorsium bakteri untuk dikembangkan menjadi kelompok mikroba pendegradasi minyak (Wage 2009). Bali merupakan daerah pariwisata dengan dampak negatif menimbulkan limbah minyak dan lemak yang cukup tinggi yaitu salah satu hasil dari

aktifitas restoran dan dari limbah domestik. Permasalahan ini harus ditemukan solusinya, salah satu alternatif ramah lingkungan yaitu dengan menggunakan bakteri pendegradasi. Diharapkan dengan ditemukannya bakteri pendegradasi minyak dan lemak permasalahan limbah dari minyak dan lemak mendapat solusi sebelum dibuang ke sungai . Sungai dan lingkungan menjadi lebih baik dan dapat digunakan sebagai sumber air bagi pangan dan pertanian Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri pendegradasi minyak dan lemak pada limbah tercemar lemak serta potensi dari bakteri pendegradasi minyak dan lemak dalam mendegradasi secara *invitro*.

BAHAN DAN METODE

Skrining mikroba pendegradasi minyak dan lemak

Sampel limbah minyak dan lemak yang diperoleh dari lingkungan yang tercemar diencerkan sampai pangkat 10^3 dengan menggunakan metoda *Plating Method* kemudian dilakukan isolasi mikroba menggunakan media selektif sbb;

Media pengayaan terdiri dari 1 g / l minyak bunga matahari, 0,5 g / l KH_2PO_4 , 0,5 g / l $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,1 g / l MgSO_4 , 0,1 g / l CaCl_2 dan 1 g / l ragi digunakan untuk memperkaya bakteri pengurai lemak. Agar Tween-peptone mengandung 10,0 g / l pepton, 5,0 g / l NaCl , 0,1 g / l CaCl_2 , 5 ml / l Tween 80 dan 18 g / l agar. Media Mineral; untuk mengetahui kemampuan strain untuk menurunkan substrat lemak . Media mineral memiliki komposisi sebagai berikut: 0,5 g / l KH_2PO_4 , 0,5 g / l $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,1 g / l

MgSO₄ dan 0,1 g / l CaCl₂ (pH 6,8) (Čipinytė *et al.*, 2009). Suspensi dari 1% (b / v) limbah diinkubasi dalam media pengayaan pada suhu 30°C pada shaker kecepatan 200 rpm selama 72 jam. Setelah inkubasi, biakan mikroba dituang pada media *Nutrient Agar* untuk dilakukan isolasi koloni tunggal. Strain diisolasi dan dituang pada agar Tween-peptone dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 72 jam untuk skrining mikroba pengurai minyak dan lemak. Strain dengan menunjukkan lingkaran cahaya buram di sekitar koloni yang dipilih untuk percobaan lebih lanjut. Selanjutnya identifikasi bakteri menggunakan BB Crystal Kit

Uji kemampuan strain untuk mendegradasi limbah minyak dan lemak

Media mineral yang diberi dengan 0,1% minyak nabati (minyak canola dan minyak jagung), lemak hewani (lemak babi dan lemak sapi), selanjutnya diinokulasikan kultur bakteri yang telah ditumbuhkan pada media *Nutrient Broth* dengan kerapatan 1×10^8 sel/ml sebanyak 20 ml diinkubasi di 28°C, 200 rpm selama 48 jam. Kontrol tanpa pemberian kultur bakteri. Total bakteri yang tumbuh dihitung dengan menggunakan *Plating method* (Čipinytė *et al.*, 2009).

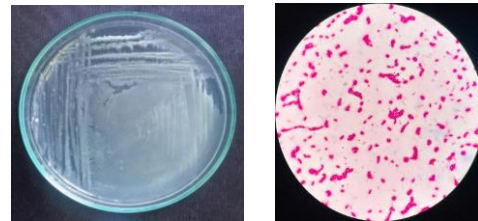
Uji kemampuan konsorsium bakteri pendegradasi lemak dengan media molase

Konsorsium bakteri yang telah ditumbuhkan pada media berbahan dasar Molase sebanyak 2 ml, 4 ml, 8 ml dan 10 ml diinokulasikan pada berbagai limbah minyak dan lemak sebanyak 20 ml. Diinkubasi pada shaker kecepatan 200 rpm selama 72 jam pada suhu 28°C dan dihitung koloni yang tumbuh

HASIL

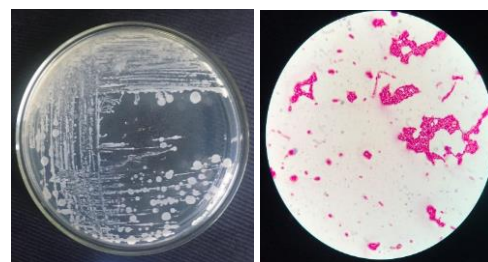
Ditemukan 3 bakteri pendegradasi lemak dan teridentifikasi menggunakan BB Crystal Kit yaitu

Isolat 1. Morfologi koloni; koloni berwarna putih, mikroskopik berbentuk batang/bacillus, Gram positif, berendospora dan teridentifikasi sebagai *Bacillus coagulans*



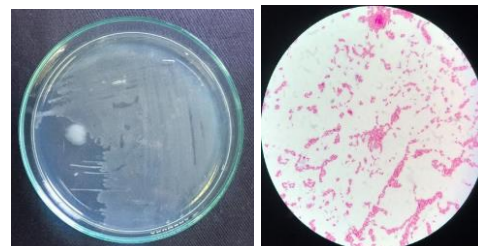
Gambar 1. Morfologi Makroskopik dan Mikroskopik Koloni isolat 1

Isolat 2. Morfologi koloni; koloni berwarna putih dan besar, berbentuk batang/bacillus, Gram positif, berendospora dan teridentifikasi sebagai *Bacillus licheniformis*



Gambar 2. Morfologi Makroskopik dan Mikroskopik Koloni isolat 2

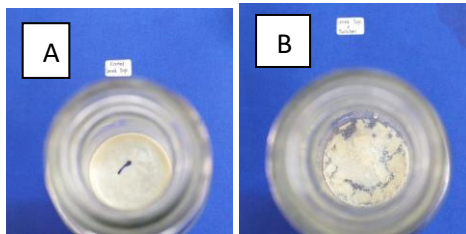
Isolat 3. Morfologi koloni; koloni berwarna putih, berbentuk batang/bacillus, Gram positif, teridentifikasi sebagai *Pseudomonas diminuta*



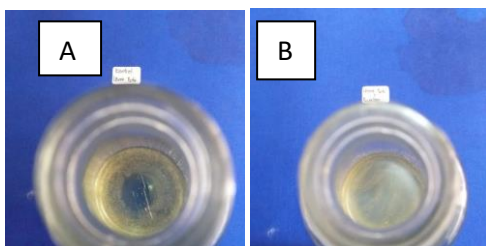
Gambar 3. Morfologi Makroskopik dan Mikroskopik Koloni isolat 3

Tabel 1. Total Bakteri pada sampel minyak dan lemak dengan pemberian 20 ml kultur bakteri

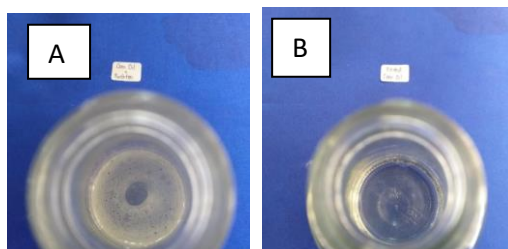
No	Nama Sampel	Perlakuan kultur bakteri	Total Bakteri CFU/ml
1	Minyak Canola	20 ml	804×10^5
2	Minyak jagung	20 ml	624×10^5
3	Lemak Babi	20ml	816×10^5
4	Lemak sapi	20ml	728×10^6
5	Kontrol	0	56×10^1



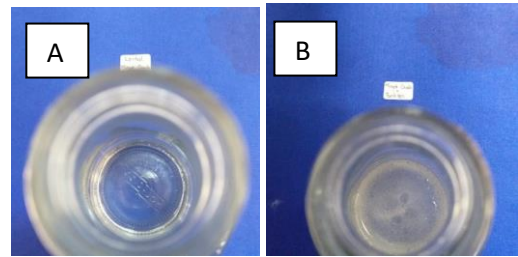
Gambar 4. Kemampuan Konsorsium bakteri dalam mendegradasi lemak sapi A.kontrol. B.Perlakuan



Gambar 5. Kemampuan Konsorsium bakteri dalam mendegradasi lemak babi A.kontrol. B.Perlakuan



Gambar 6. Kemampuan Konsorsium bakteri dalam mendegradasi minyak canola. A.kontrol. B.Perlakuan



Gambar 7. Kemampuan Konsorsium bakteri dalam mendegradasi minyak jagung A.kontrol. B.Perlakuan

Tabel 2. Total Bakteri pada berbagai limbah dan perlakuan dengan konsorsium bakteri berbahan dasar molase

No	Nama Sampel	Perlakuan kultur bakteri	Total Bakteri CFU/ml
1	Limbah minyak di pasar	2 ml	5342×10^4
		4 ml	698×10^4
		8 ml	802×10^4
		10 ml	904×10^4
2	Limbah minyak Rumah Tangga	2 ml	374×10^4
		4ml	503×10^4
		8ml	552×10^4
		10ml	724×10^4
3	Limbah goreng ayam	2ml	472×10^4
		4ml	555×10^4
		8ml	689×10^4
		10ml	989×10^4
4	Limbah minyak sawit	2ml	292×10^4
		4ml	345×10^4
		8ml	732×10^4
		10ml	926×10^4
5	Limbah cuci piring	2ml	292×10^4
		4ml	372×10^4
		8ml	448×10^4
		10ml	878×10^4

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini ditemukan 3 bakteri pendegradasi lemak dan minyak yaitu bakteri yaitu *Bacillus licheniformis*, *Bacillus coagulan* dan *Pseudomonas diminuta*. (Gambar1,2,3).

Bacillus sp. adalah bakteri bersifat aerob dan fakultatif anaerob serta merupakan salah satu bakteri yang bermanfaat dalam proses pengolahan air limbah minyak. *Bacillus* sp. 13 merupakan bakteri Gram positif dengan sel berbentuk batang. Ujung sel persegi, bundar, meruncing, atau lancip seperti ujung cerutu, Ujung sel terpisah dan adakalanya tetap saling melekat dengan yang. *Bacillus* sp. sangat resisten terhadap kondisi yang kurang baik seperti suhu, pH, dan salinitas sehingga distribusinya di alam sangat luas (Aluyor *et al.*, 2009). Bakteri kelompok *Bacillus* merupakan bakteri yang umumnya berbentuk batang atau bulat memanjang (basil), berukuran antara 0,3 – 2,2 μ x 127 – 7,0 μ m, sebagian besar bersifat motil dan memiliki flagelum khas lateral. Kelompok *Bacillus* umumnya membentuk endospora, tidak lebih dari satu dalam satu sel sporangium dan termasuk dalam bakteri Gram positif. *Bacillus* sp. memiliki kemampuan degradasi lemak dalam limbah cair dengan konsentrasi yang cukup tinggi Darmayasa, (2008)

Hasil yang dicapai pada penghitungan total bakteri pada sampel minyak dan lemak dengan pemberian 20 ml kultur bakteri menunjukkan kemampuan konsorsium bakteri untuk tumbuh dan mendegradasi minyak secara baik yaitu 624×10^5 CFU/ml tertinggi dengan total bakteri 816×10^5 CFU/ml dengan kontrol tanpa penambahan konsorsium bakteri yaitu sebesar 56×10^1 CFU/ml (Tabel 1). Dapat dilihat juga dari Gambar 4,5,6 dan 7 bahwa kemampuan konsorsium bakteri dalam mendegradasi minyak dan lemak. Kemampuan tersebut berbeda beda. Penghitungan total bakteri pada berbagai limbah minyak dengan perlakuan konsorsium bakteri berbahan dasar molase pada uji secara *invitro* menunjukkan kemampuan hidup dan berkembang dari konsorsium bakteri yang cukup tinggi yaitu 292×10^4 CFU/ml sampai tertinggi 904×10^4 CFU/ml (Tabel 2). Potensi dari ketiga bakteri sebagai konsorsium bakteri berbahan dasar molase ketika diberikan pada berbagai jenis

limbah minyak menunjukkan hasil yang sangat baik yaitu mampu tumbuh dan berkembang.

Biodegradasi dapat menjadi salah satu cara yang efektif untuk mengatasi limbah lemak (Maan *et al.*, 2015). Beberapa bakteri seperti *Bacillus licheniformis*, yang merupakan anaerob fakultatif, memberikan penurunan lemak konsentrasi tertinggi dengan pengurangan total 83% (Phong *et al.*, 2014). Strain *Bacillus* sp tertentu dapat menghasilkan enzim lipolitik yang bermanfaat untuk pengolahan air limbah yang tinggi lemak dan kandungan protein (Sangeetha *et al.*, 2010).

Penambahan Tween 80% pada media dari penelitian ini dapat mengefektifkan kerja dari enzyme lipase yang di hasilkan oleh bakteri. Henriette *et al.*, (1993) menyatakan Tween 80 dapat menginduksi biosintesis lipase atau dapat bertindak sebagai penginduksi ekspresi gen lipase dan meningkatkan sekresi dan produksi lipase dari bakteri.

Penggunaan strain bakteri aerob tersuspensi baik secara individu atau kombinasi menunjukkan efisiensi tinggi untuk menghilangkan minyak dan lemak serta bahan organik. Kombinasi M1 (*Pseudomonas* sp. dan *P. diminuta*) menghasilkan yang tertinggi aktivitas degradatif, diikuti oleh M3 (*Pseudomonas* sp., *P. diminuta* dan *P. pseudoalcaligenes*). Juga diketahui bahwa M1 mempunyai aktivitas tertinggi dalam mengurangi COD (93%) dan BOD5 (100%). (El-Bestawy *et al.*, 2005). Biodegradasi limbah berminyak menggunakan berbagai jenis mikroorganisme seperti bakteri, jamur, dan ragi, menunjukkan degradabilitas yang efektif (Erguderet *et al.*, 2000). *Pseudomonas* sp. merupakan bakteri hidrokarbon yang mampu mendegradasi berbagai jenis hidrokarbon. Selain mendegradasi hidrokarbon 14 pemberian bakteri *Pseudomonas pseudomallei* *Pseudomonas stutzeri* dan *Pseudomonasstutzeri* memberikan pengaruh penurunan kandungan protein, lemak, dan karbohidrat (Budi *et al.*, 2010)

Menurut Pikoli *et al.*, (2000), jenis bakteri pendegradasi lipid yang sering dijumpai diantaranya *Bacillus* sp., *Klebsiella* sp. dan *Staphylococcus* sp. Jenis-jenis bakteri dari genus

Bacillus yang mampu mendegradasi lipid yaitu *Bacillus polymixa*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus stearothermophyllus*, *Bacillus brevis* dan *Bacillus coagulans*.

KESIMPULAN

Ditemukan 3 strain bakteri yaitu *Bacillus licheniformis*, *Bacillus coagulan* dan *Pseudomonas diminuta*. Bakteri yang ditemukan mempunyai potensi untuk mendegradasi minyak dan lemak yang bekerja secara sinergistik.

Prospek dari penelitian ini bakteri yang telah ditemukan sebagai pendegradasi lemak dan minyak dapat digunakan sebagai starter pengolahan limbah lemak dan minyak di lingkungan yang tercemar

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didukung dari dana PNBPU Universitas Udayana dengan Surat Keputusan no B/1324/UN14.2.8.II/PT.01.05/2020

DAFTAR PUSTAKA

- Aluyor, E.O., M. Ori-Jesu, and K.O. Obahiagbon. 2009. Biodegradation of vegetable oils: A review. *Scientific Research and Essay* 4:543-548.
- Al-Darbi M.M, N.O. Saeed, M.R. Islam, K. Lee .2005. Biodegradation of Natural Oils in Seawater. *Energy Sources*. 27: 19–34.
- Boedi. S. S Prayogo, G Mahasri dan M D. Hardhianto.2010.Efektifitas bakteri *Pseudomonas* sebagai pengurai bahan organik (protein,karbohidrat,lemak) pada media air limbah pembenihan ikan lele dumbo (*clarias* sp.) sistem resirkulasi tertutup. *Jurnal ilmiah perikanan dan kelautan* 2(2): 158-164
- Čipinytė A.S. E. Griiskis. Baskys. 2009. Selection of Fat-degrading Microorganism for The Treatment of Lipid Contaminated Environment. *Biologija*.55(3):84-90
- 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
- El-Bestawy .B. H. Mohamed . El-Masry. El Nawal. El-Adle. 2005.The potentiality of free Gram-negative bacteria for removing oil and grease from contaminated industry Effluents. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 21:815–822
- Erguderet T. H, E. Guven, and G.N. Demirer. 2000. Anaerobic treatment of olive oil waste water in batch reactor, *Process Biochemistry* 36(3) :234-248
- Henriette, C, S Zinebi, Aumaitre, M.F. Petitdemange. 1993. Protease and lipase production by a strain of *Serratia marcescens* (532 S). *J Ind Microbiol*, 12;129-135
- Ma'an F. M.A. Alkhatib. Md. Z Alam, F. Haytham. M. Shabana. 2015. Isolation of Bacterial Strain for Biodegradation of Fats, Oil and Grease. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*. 19 (1): 138 – 143
- Sangeetha, R., A. Geetha, A.and I. Arulpanandi 2010. Concomitant production of protease and lipase by *Bacillus licheniformis* VSG1: production, purification and characterization. *Brazilian Journal of Microbiology*. 41.179-185
- Pikoli, M.R. P. Aditiawati, dan D.I Astuti, 2000, Isolasi Bertahap dan Identifikasi Bakteri Termofilik Pendegradasi Minyak Bumi dari Sumur Bangko', *Jurnal Proc, ITB*. 32(2): 53-58.
- Phong Ngo T. Ng. T. Duyen.,C.Ng Diep. 2014. Isolation and characterization of lipid - degrading bacteria in wastewater of food processing plants and restaurants in Can Tho city, Vietnam. *American Journal of Life Sciences* 2(6): 382-388
- Ugochukwu K.C, Agha N.C, Ogbulie. 2008. Lipase activities of microbial isolates from soil contaminated with crude oil after bioremediation. *African J of Biotechnol*. 7:2881-2884.
- Wage K. 2009. Karakteristik dan Pertumbuhan Konsorsium Mikroba Lokal dalam media mengandung Minyak Bumi. *J. Teknik. Lingkungan*.10(1):114 – 119.