

**Isolasi Bertahap Bakteri Pendegradasi Limbah Tandan Kosong Kelapa Sawit di PT. Erasakti Wira Forestama Muaro Jambi**

*Isolation Gradual Degrading bacteria against Waste of an Empty palm stem in PT. Erasakti Wira Forestama, Muaro Jambi*

**Retni S. BUDIARTI<sup>1)</sup>, Winda Dwi KARTIKA<sup>1)</sup>**

<sup>1)</sup>Program Studi Pendidikan Biologi PMIPA FKIP Universitas Jambi  
Jalan Raya Jambi-Ma.Bulian KM.15 Mendalo Darat Jambi  
Email: rsb\_nugraha@yahoo.co.id

**Abstract.** This research was intended to get isolate bacteria which is able to loosen waste of an empty palm stem gradually. First stage of screening in the Nutrient broth and an empty palm stem which was shaking with 150 rpm in 3 days, results 18 isolated bacteria. While second stage of screening was using nutrient broth added with an empty stem of palm and enrich with first stage residue (nutrient broth added with an empty stem of palm which has been degraded by 18 isolated) shake in 3 days within 150 rpm speed. Resulted 6 isolated bacteria. According to Bergey's manual of determinative Bacteriology book, isolate 1, isolate 2, isolate 3, isolate 5 and isolate 6 are counted to seventh group that is gram bacteria negative aerobic shaped Coccus and stem. While isolate 4 included to group 14 that is gram bacteria positive Coccus shaped.

**Key word:** isolate, waste, empty palm stem gradually

**Abstrak.** Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri yang mampu mengurai limbah tandan kosong kelapa sawit secara bertahap. Skrining tahap pertama pada *Nutrient Broth* dan Tandan Kosong Kelapa sawit yang dishaker 150 rpm selama 3 hari, dan diperoleh 18 isolat bakteri. Sedangkan pada skrining tahap kedua menggunakan *Nutrient Broth* ditambah Tandan Kosong Kelapa Sawit dan diperkaya dengan sisa medium tahap 1 (*Nutrient Broth* ditambah Tandan Kosong Kelapa Sawit yang telah didegradasi oleh 18 isolat) dishaker selama 3 hari dengan kecepatan 150 rpm, didapatkan 6 buah isolat bakteri. Menurut buku *Bergey Manual of Determinative Bacteriology* Isolat 1, isolat 2, isolat 3, isolat 5 dan isolat 6 termasuk kelompok ke 7 yaitu bakteri gram negatif aerobik bentuk kokus dan batang. Sedangkan isolat 4 termasuk ke dalam kelompok ke 14 yaitu bakteri gram positif berbentuk kokus.

**Kata Kunci :** Isolasi, Limbah, Tandan Kosong Sawit

#### **PENDAHULUAN**

Limbah Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) adalah limbah terbesar yang dihasilkan oleh industri pengolahan sawit. Sejauh ini pemanfaatan yang telah dilakukan hanya terbatas untuk pengeras jalan, digunakan sebagai penetral pH dan dijadikan pupuk (Isroi, 2008). Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS) telah melakukan Pengolah Limbah TKKS dengan menggunakan mikroorganisme yang dikenal dengan teknologi kompos bioaktif. Teknik ini mampu mempercepat waktu pengomposan menjadi 2-3 minggu (Goenadi,

1997). Pada umumnya limbah mengandung senyawa organik dan anorganik. Limbah yang mengandung senyawa organik dapat didegradasi oleh mikroba dan dapat dikendalikan secara biologis. Salah satu teknik yang digunakan ialah dengan menggunakan teknik isolasi. Dalam kegiatan mikrobiologi, pembuatan isolat dilakukan dengan cara mengambil sampel mikrobiologi dari lingkungan yang ingin diteliti. Dari sampel tersebut kemudian dibiakkan dengan menggunakan media universal atau media selektif lainnya sesuai dengan tujuan yang ingin dicapai.

Umumnya isolat-isolat yang dihasilkan masih menggunakan pengkultivasi dengan metode “spread” atau media sebar pada media padat. Sementara isolasi bertahap merupakan suatu prosedur yang hampir sama, perbedaannya hanya pada tahapannya saja. Isolasi bertahap sangat memperhatikan kemampuan suatu bakteri yang hidup pada suatu komunitas yang ada pada suatu habitat untuk bisa memecah secara bertahap. Tahapan-tahapan pengisolasi akan mendapatkan isolat-isolat bakteri yang mampu memecah nutrisi yang sederhana sampai pada nutrisi yang lebih kompleks. Dalam suatu penelitian, Pikoli (2000) mampu mengisolasi bakteri termofilik pendegradasi minyak bumi melalui 3 tahapan. Dimana tahapan pertama sampai ketiga memperoleh isolat-isolat yang memiliki kemampuan berbeda dalam mendegradasi senyawa-senyawa yang ada pada minyak bumi.

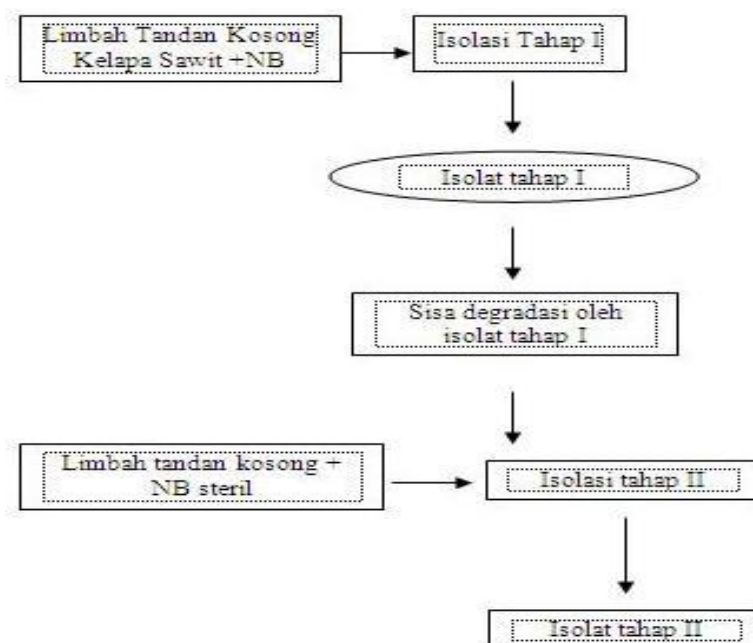
Tiga tahapan pengisolasi bakteri yang dilakukan oleh pikoli (2000) dapat dijadikan sebuah acuan dalam mendegradasi limbah tandan sawit. Karena limbah tandan kosong kelapa sawit adalah sumber nutrient organik kompleks yang tersusun dari sebagian besar senyawa selulosa dan lignisellulosa yang sangat sulit terdegradasi. Selain itu dengan memperhatikan “Postulat Koch”, dimana mikroba yang berpotensi mengolah limbah pasti terdapat di dalam limbah dan dapat diisolasi yang selanjutnya dapat dikultur secara murni. Oleh sebab itu, untuk pengisolasi bakteri secara bertahap terhadap limbah tandan sawit kosong dilakukanlah upaya menyeleksi isolat-isolat

unggul pada tingkatan sinergis untuk bekerja mendegradasi limbah kosong kelapa sawit.

### BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan jenis penelitian deskriptif eksploratif dengan menggunakan teknik isolasi bertahap yang mengeksplor mikroba pendegradasi limbah tandan kosong kelapa sawit dari PT. Era Sakti Wira Forestama Muaro Jambi selama lebih kurang 5 bulan. Pada tahap isolasi satu, kegiatan yang dilakukan adalah menginokulasi 5 g limbah kosong kelapa sawit pada erlenmeyer yang telah berisi medium pertumbuhan mikroba dan memutarnya pada *rotary shaker* dengan kecepatan 150 rpm. Kemudian dilakukan isolasi kultur murni sampai didapat isolat murni (ISOLAT I).

Pada tahap isolasi dua, kegiatan yang dilakukan adalah menginokulasi ISOLAT I yang sudah diaktivasi pada medium *Nutrient Broth* ditambah sisa medium hasil degradasi 1 dan menambahkannya dengan 5 g limbah tandan kosong kelapa sawit, lalu diputar dan selanjutnya diisolasi untuk mendapatkan ISOLAT II. Tahapan selanjutnya adalah mengidentifikasi seluruh isolat yang ditemukan baik secara morfologi (bentuk koloni pada medium padat dan cair, tepi koloni, elevasi, warna permukaan koloni, penampakan koloni, bentuk sel dan sifat gram) untuk setiap isolat bakteri yang diperoleh. Selanjutnya dilakukan tes biokimia yang dipandu dengan kunci identifikasi “*Bergey Manual Determinative of Bacteriologis*”.



Gambar 1. Bagan Isolasi Bertahap Bakteri dari Limbah Tandan Kosong Kelapa Sawit

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada skrining tahap I, didapatkan 18 buah isolat yang mampu tumbuh pada substrat diperkaya (Nutrient broth ditambah tandan kosong kelapa sawit). Isolat-isolat tersebut memiliki ciri-ciri morfologi koloni seperti yang terdapat pada Tabel 1. Isolat 1 sampai isolat 18 pada umumnya berbentuk irreguler dan circular. Selain itu, isolat 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 11, 13, 15, 16, 17, 18 merupakan bakteri gram positif,

sedangkan untuk isolat 7, 9, 12, 14 merupakan bakteri gram negatif. Adapun hasil pengamatan dari permukaan isolat diperoleh hasil bahwa isolat 1, 2, 4, 5, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 17 mempunyai permukaan yang halus, kemudian untuk isolat 3, 6, 10, 14, 15, 16, 18 mempunyai permukaan yang kasar. Hal-hal tersebut cukup untuk membuktikan bahwa koloni yang ada di berbagai macam isolat mulai dari isolat 1 sampai dengan isolat 18 tersebut mempunyai kemiripan yang hampir sama.

Tabel 1. Data Pengamatan Morfologi Koloni dan Pewarnaan Gram Sel Bakteri

Kode Isolat	Ciri Koloni				Sel	Gram	Permukaan
	Bentuk	Tepi	Elevasi	Warna			
G. 1	Irreguler	Entire	Flat	Kuning	Basil	Positif	Halus
G. 2	Circular	Entire	Convex	Putih	Basil	Positif	Halus
G. 3	Circular	Serrate	Raised	Putih	Basil	Positif	Kasar
G. 4	Circular	Entire	Convex	Putih	Coccus	Positif	Halus
G. 5	Circular	Undulate	Raised	Putih	Basil	Positif	Halus
G. 6	Circular	Undulate	Flat	Putih	Basil	Positif	Kasar
G. 7	Circular	Entire	Raised	Putih	Coccus	Negatif	Halus
G. 8	Irreguler	Entire	Convex	Kuning	Coccus	Positif	Halus
G. 9	Circular	Serrate	Raised	Putih	Basil	Negatif	Halus
G. 10	Irreguler	Filamen	Raised	Putih	Basil	Positif	Kasar
G. 11	Circular	Entire	Convex	Putih	Coccus	Positif	Halus
G. 12	Circular	Serrate	Convex	Kuning	Basil	Negatif	Halus
G. 13	Irreguler	Entire	Convex	Putih	Coccus	Positif	Halus
G. 14	Circular	Entire	Flat	Kuning	Basil	Negatif	Kasar
G. 15	Circular	Filamen	Convex	Putih	Basil	Positif	Kasar
G. 16	Circular	Entire	Raised	Kuning	Basil	Positif	Halus
G. 17	Circular	Entire	Raised	Putih	Coccus	Positif	Halus
G. 18	Circular	Undulate	Flat	Putih	Basil	Positif	Kasar

Keterangan Tabel 1:

Irreguler	: tidak beraturan	Filamen	: berupa helaian
Circular	: bulat	Raised	: muncul
Lobate	: bergelombang	Entire	: utuh
Flat	: datar	Serrate	: bergerigi
Convex	: cembung	Undulate	: berombak
Pulvinate	: cembung bertingkat		

Isolat yang diperoleh dari skrining tahap I memiliki ciri-ciri fisiologi dalam memecah nutrient di lingkungannya. Hasil yang diperoleh dalam uji ini menunjukkan variasi kemampuan masing-masing isolat dalam memecah nutrien yang berbeda. Kemampuan masing-masing isolat dalam memecah nutrien dapat dilihat

dalam Tabel 2. Hasil pengamatan yang diperoleh menunjukkan bahwa uji biokimia yang dilakukan menunjukkan bahwa isolat 1 sampai 18 mampu mengurai substrat dekstrosa, laktosa dan sukrosa yang merupakan golongan karbohidrat dan tidak mampu mengurai substrat VP dan H<sub>2</sub>S.

Tabel 2. Data Uji Biokimia

Kode Isolat	Uji Biokimia										
	Karbohidrat			Indole	MR	VP	SC	H <sub>2</sub> S	Katalase	Gelatin	Starch
	Dekstrosa	Laktosa	Sukrosa								
G. 1	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+
G. 2	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-
G. 3	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-
G. 4	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-
G. 5	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+
G. 6	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-
G. 7	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-
G. 8	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+
G. 9	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-
G. 10	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+
G. 11	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
G. 12	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-
G. 13	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+
G. 14	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
G. 15	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+
G. 16	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+
G. 17	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
G. 18	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+

Keterangan: (+) menandakan reaksi positif (mampu mengurai substrat)

(-) menandakan reaksi negatif (tidak mampu mengurai substrat) (Nugraha. A, 2014)

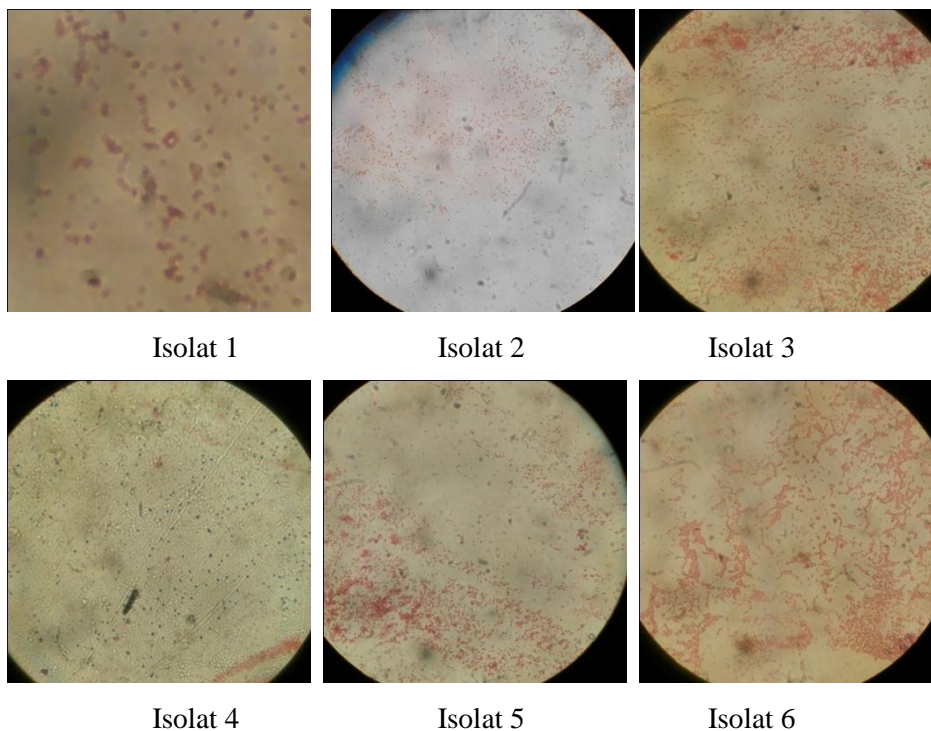
Setelah dilakukan identifikasi, ke 18 isolat hasil skrining tahap I termasuk kedalam genus: *Bacillus/A* (G1), *Actinomycetes* (G2), *Bifidobacterium* (G3), *Planococcus* (G4), *Baccillus/S* (G5), *Khurtia* (G6), *Acidaminococcus* (G7), *Micrococcus* (G8), *Agrobacterium* (G9), *Micromonospora* (G10), *Pediococcus* (G11), *Pseudomonas* (G12), *Stoptyloloccus* (G13), *Flavobacterium* (G14),

*Streptomyces* (G15), *Cellulomonas* (G16), *Ruminococcus* (G17), dan *Clostridium* (G18)

Sisa hasil isolasi tahap 1 dibawa ke isolasi tahap 2. Hasil skrining Tahap II memperoleh 6 isolat bakteri yang dianalisis dari bentuk koloni (pada medium padat dan cair), tepi koloni, warna permukaan koloni, bentuk sel dan sifat gram. Adapun hasil analisis yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3 Ciri Morfologi Koloni Isolat Bakteri pada Skrining Tahap II

Isolat	Ciri-ciri				
	Bentuk	Tepi	Warna	Pewarnaan Gram	Bentuk Sel
1	Circular	Entire	Bening	Negatif	Coccus
2	Irregular	Lobate	Putih	Negatif	Coccus
3	Irregular	Undulate	Putih	Negatif	Basil
4	Circular	Entire	Putih Kekuningan	Positif	Coccus
5	Irregular dan spreading	Entire	Putih Susu	Negatif	Coccus
6	Round	Entire	Putih Susu	Negatif	Coccus



Gambar 2 Pewarnaan Gram

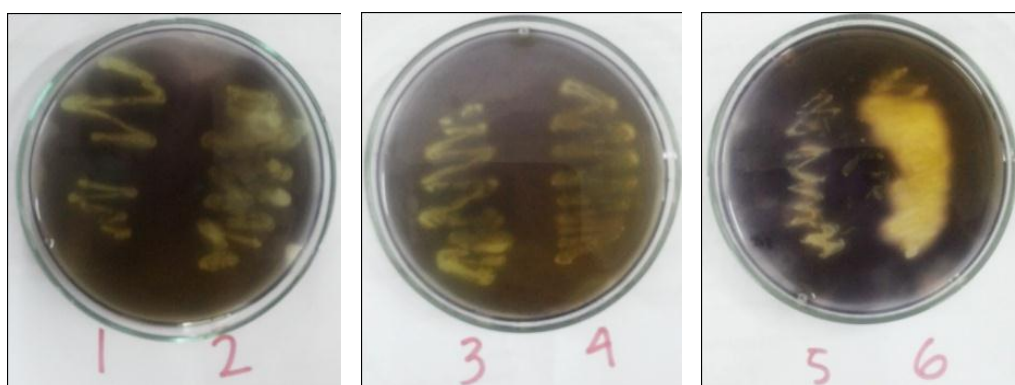
Hasil pengamatan yang diperoleh untuk isolat 1 dan isolat 4 pada umumnya berbentuk irregular dan circular sedangkan isolat 5 berbentuk Irregular dan spreading dan isolat 6 berbentuk round. Kemudian, isloat 1, 2, 3, 5 dan 6 menunjukkan tergolong kedalam bakteri gram negatif, sedangkan untuk isolat 4 tergolong kedalam gram positif. Sel isolat 1, 2, 3, 5 dan 6

berbentuk cocus sedangkan isolat 3 berbentuk basil. Setiap mikroba memiliki karakteristik biokimia tersendiri yang disebut *biochemical fingerprints*. Dasar ini digunakan untuk melihat adanya persamaan dan perbedaan masing-masing isolat. Ciri-ciri biokimia pada bakteri hasil scrining Tahap II yang dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4 Ciri Biokimia Isolat Bakteri pada Skrining Tahap II

Koloni ke-	Uji Biokimia									
	Karbohidrat			Sitrat	H <sub>2</sub> S	Amilum	Katalase	Indol	MR	VP
	S	D	L							
1	-	+	+ <sup>g</sup>	+	+	+	+	-	-	-
2	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-
3	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-
4	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-
5	+ <sup>g</sup>	+	-	+	+	+	+	-	-	+
6	+	+ <sup>g</sup>	-	+	+	+	+	-	-	+

Keterangan: (+) menandakan reaksi positif (mampu mengurai substrat)  
 (+<sup>g</sup>) menandakan reaksi positif dan menghasilkan gas  
 (-) menandakan reaksi negatif (tidak mampu mengurai substrat)



Gambar 3 Hasil Hidrolisis Amilum

Keterangan

1. Medium *Starch Agar* dengan Isolat 1 reaksi positif
2. Medium *Starch Agar* dengan Isolat 2 reaksi positif
3. Medium *Starch Agar* dengan Isolat 3 reaksi positif
4. Medium *Starch Agar* dengan Isolat 4 reaksi positif
5. Medium *Starch Agar* dengan Isolat 5 reaksi positif
6. Medium *Starch Agar* dengan Isolat 6 reaksi positif

Hasil hidrolisis amilum menunjukkan bahwa isolat 1 hingga isolat 6 mampu diurai dengan baik. Hasil ini menunjukkan bahwa seluruh isolat mampu memecah karbohidrat dari jenis polisakarida dengan menghasilkan eksoenzim dengan cara mengeluaran enzim dari dalam selnya sehingga makanan yang terdapat di luar selnya mampu dicerna dengan baik.

Hasil pengamatan pada skrining tahap dua untuk isolat 1 menunjukkan ciri morfologi koloni bentuk circular, tepi entire, warna bening, bentuk sel coccus gram negatif. Sedangkan ciri biokimia sukrosa negatif, dekstrosa positif, laktosa positif, sitrat positif, H<sub>2</sub>S positif, amilum positif, katalase positif, indol negatif, methyl red negatif, dan voges proskauer negatif. Isolat 2 menunjukkan ciri morfologi koloni bentuk irregular, tepi lobate, warna putih, bentuk sel coccus gram negatif. Sedangkan ciri biokimia sukrosa positif, dekstrosa positif, laktosa negatif, sitrat positif, H<sub>2</sub>S positif, amilum positif, katalase positif, indol negatif, methyl red negatif, dan voges proskauer negatif. Isolat 3 menunjukkan ciri morfologi koloni bentuk irregular, tepi undulate, warna putih, bentuk sel basil gram negatif. Sedangkan ciri biokimia sukrosa, dekstrosa, dan laktosa positif, sitrat positif, H<sub>2</sub>S positif, amilum positif, katalase positif, indol negatif, methyl red negatif, dan voges proskauer negatif. Isolat 4 menunjukkan ciri morfologi koloni bentuk circular, tepi entire, warna putih susu, bentuk sel coccus gram positif. Sedangkan ciri biokimia sukrosa, dekstrosa, laktosa negatif, sitrat positif, H<sub>2</sub>S positif, amilum positif, katalase positif, indol negatif, methyl red negatif, dan voges proskauer negatif. Isolat 5 menunjukkan ciri morfologi koloni bentuk irregular/ spreading, tepi entire, warna putih susu, bentuk sel coccus gram negatif. Sedangkan ciri biokimia sukrosa positif dengan gas, dekstrosa positif, laktosa negatif, sitrat positif, H<sub>2</sub>S positif, amilum positif, katalase positif, indol negatif, methyl red negatif, dan voges proskauer negatif. Isolat 6 menunjukkan ciri morfologi koloni bentuk round, tepi entire, warna putih susu, bentuk sel coccus gram negatif. Sedangkan ciri biokimia sukrosa, dekstrosa positif, laktosa negatif, sitrat positif, H<sub>2</sub>S positif, amilum positif, katalase positif, indol negatif, methyl red negatif, dan voges proskauer positif.

## KESIMPULAN

Penelitian ini berhasil mendapatkan koleksi isolat bakteri pendegradasi limbah tandan kosong kelapa sawit yang diperoleh melalui 2 tahap skrining. Pada tahap pertama didapatkan 18 buah isolat yang kemudian diteruskan pada tahapan kedua dan diperoleh 6 isolat bakteri. Ke 6 isolat tersebut memiliki ciri-ciri sebagai berikut: isolat1: circular, bening, coccus, gram negatif, sukrosa, dekstrosa, laktosa positif, sitrat positif, H<sub>2</sub>S positif, katalase positif, indol negatif, methyl red negatif, dan voges proskauer negatif.

Isolat 2: irregular, lobate, warna putih, coccus, gram negatif, sukrosa dekstrosa positif, laktosa negatif, sitrat positif, H<sub>2</sub>S positif, amilum, katalase positif, indol, methyl red negatif, dan voges proskauer negatif.

Isolat 3: irregular, undulate, warna putih, basil gram negatif. Sukrosa, dekstrosa, dan laktosa f, sitrat, H<sub>2</sub>S, amilum, katalase positif, indol, methyl red, dan voges proskauer negatif.

Isolat 4 circular, entire, warna putih susu, coccus, gram positif. sukrosa, dekstrosa, laktosa negatif, sitrat, H<sub>2</sub>S, amilum, katalase positif, indol, methyl red, dan voges proskauer negatif.

Isolat 5 irregular/spreading, entire, warna putih susu, coccus gram negatif. sukrosa positif dengan gas, dekstrosa positif, laktosa negatif, sitrat, H<sub>2</sub>S, amilum, katalase positif, indol, methyl red dan voges proskauer negatif.

Isolat 6 round, warna putih susu, coccus gram negatif. sukrosa, dekstrosa, sitrat, H<sub>2</sub>S, amilum, katalase positif, indol, laktosa, methyl red negatif, dan voges proskauer positif.

Disarankan untuk menguji lebih lanjut baik morfologi, biokimia serta uji lapangan sehingga didapatkan genus atau spesies yang tepat.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Tim Penyandang Dana PNPB Lembaga Penelitian Universitas Jambi Tahun 2014 No. 451/UN21.6/PL/2014 dengan Surat Kontrak No: 357/UN21/PL/2014/Tanggal 12 Juni 2014, Manajemen dan Staf PT. Erasakti Wira Forestama Muaro Jambi Serta seluruh pihak yang tidak dapat disebut satu persatu, atas segala bantuan demi lancarnya penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Brock, D. Thomas, Brock, M. Katherine. 1978. *Basic Microbiology with Application second edition*. Prentice-Hall, Inc, Englewood Cliffs. New Jersey.
- Cappuccino, J. G., and Sherman, N. 1987. *Microbiology A Laboratory Manual*. Addison Wesley Company. New York.
- Goenadi, D. H., 1997, *Kompos Bioaktif dari Tandan Kosong Kelapa Sawit*. Kumpulan Makalah Pertemuan Teknis Bioteknologi. Bogor.
- Isroi, 2008. Diakses taggal, 15 juli 2013. *Cara Mudah Mengomposkan Tandan Kosong Kelapa Sawit*. <http://isroi.com/2008/02/20/makalah-tentang-kompos/>.
- Pikoli, M.R, 2000. *Isolasi Bertahap Bakteri Termofilik Pendegradasi Minyak Bumi*, Tesis magister Bidang Khusus Mikrobiologi ITB. Bandung.
- Schlegel, H. G. and Schmidt, K. 1984. *Mikrobiologi Umum*. Terjemahan Tedjo,B. UGM Press. Yogyakarta.