

## Screening and Characterization of Anoxicogenic Photosynthetic Bacteria as Carotenoid Pigments Producer from Palm Liquid Sewages

### Skrining dan Karakterisasi Bakteri Fotosintetik Anoksigenik Penghasil Pigmen Karotenoid Dari Limbah Cair Kelapa Sawit

Ummi Mardhiah Batubara<sup>1\*</sup>, Fitriatul Aini<sup>2</sup>, Manta Mentari Manurung<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau, Jl. HR Soebrantas Km 12,5 Simpang Baru, Panam – Pekanbaru, Indonesia 28293

<sup>2</sup>Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Jambi, Jl Ma.bulian KM 15, Jambi Luar Kota-Jambi, Indonesia

\*Email coresponding: ummimardhiah@lecturer.unri.ac.id

Diterima 05 Maret 2021 dan Disetujui 30 Maret 2021

#### Abstrak

Limbah cair kelapa sawit merupakan limbah organik yang memiliki kandungan kompleks seperti air, minyak dan padatan organik. Kandungan organik limbah cair kelapa sawit menjadi indikasi kelimpahan beragam jenis mikroorganisme. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan bakteri fotosintetik anoksigenik (BFA) penghasil pigmen karotenoid yang berasal dari limbah cair kelapa sawit. Isolasi dan skrining BFA dilakukan dari tiga lokasi pembuangan limbah cair kelapa sawit yang berada di Provinsi Jambi. Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental menggunakan media mineral modifikasi. Isolat BFA yang tumbuh dan menghasilkan pigmen karotenoid ditandai dengan adanya distribusi pigmen berwarna kuning kemerahan pada media kultur. Dari hasil skrining diperoleh 11 isolat BFA yaitu Bg1K201, Bg1K202, Bg2k201, Bg3k201, Mr1k201, Mr1k202, S11k201, S11k202, S12k201, S12k202 dan S13k202. Hasil karakterisasi ciri morfologi dan sifat fisiologi berdasarkan *Bergeys Manual of Determinative Bacteriology* menunjukkan bahwa dari kesebelas isolat BFA didapatkan 2 jenis genus BFA yang tergolong gram negatif dan memiliki pigmen karotenoid yaitu genus *Rhodobacter* (Bg1k201, Bg1k202, Bg3k201, S11k201, S11k202, S12k201, S12k202 dan, S13k202) dan genus *Rhodospseudomonas* (Bg2k201, Mr1k201 dan Mr1k202).

**Kata Kunci:** bakteri fotosintetik anoksigenik, limbah cair kelapa sawit, pigmen karotenoid

#### Abstract

*Palm liquid sewage is organic waste that contains complex compounds such as water, oil, and organic solids. The organic content of palm liquid sewage is an indication of the abundance of microorganisms. This study aims to obtain anoxygenic photosynthetic bacteria (BFA) that produce carotenoid pigments from palm liquid sewage. Therefore, We isolated and screened of BFA from three palm liquid sewage disposal sites in Jambi Province. This research was conducted by an experimental method using a modified mineral medium. BFA isolates that growth and produced carotenoid pigments are visible because of the distribution of reddish-yellow pigments on the culture media. Screening results obtained 11 isolates of BFA sequentially Bg1K201, Bg1K202, Bg2k201, Bg3k201, Mr1k201, Mr1k202, S11k201, S11k202, S12k201, S12k202 and S13k202. The results of morphological and physiological characterization based on the *Bergeys Manual of Determinative Bacteriology* show that there are two types of BFA genera that have carotenoid pigments, respectively, the genus *Rhodobacter* (Bg1k201, Bg1k202, Bg3k201, S11k201, S11k202, and S11k202, and S12k202, and S11k202, and S12k202, and S11k202 and S12k202, and S12k202, and S12k202. S12k202, and) the genus *Rhodospseudomonas* (Bg2k201, Mr1k201 and Mr1k202).*

---

**Keywords:** *anoxygenic photosynthetic bacteria, carotenoid pigments, palm liquid sewage*

## PENDAHULUAN

Kelapa sawit merupakan salah satu komoditas unggulan yang terdapat disebagian besar wilayah Indonesia. Berdasarkan Data BPS tahun 2019, jumlah komoditas kelapa sawit tertinggi berada di pulau sumatera yaitu Provinsi Riau, Sumatera Utara, Sumatera Selatan dan Jambi. Peningkatan jumlah komoditas kelapa sawit berdampak pula pada jumlah limbah yang dibuang ke lingkungan seperti limbah cair. Menurut [Nursanti \(2013\)](#), limbah cair pabrik kelapa sawit berwarna kecoklatan, terdiri dari padatan terlarut dan tersuspensi berupa koloid dan residu minyak dengan kandungan COD dan BOD tinggi, bersifat netral sampai asam. Kandungan yang terdapat di dalam limbah cair kelapa sawit terdiri dari 95% air, 4-5% bahan organik terlarut dan tersuspensi (selulosa,protein,lemak) dan 0,5-1% residu minyak yang sebagian besar berupa emulsi ([Sinaga & Nasution, 2016](#)). Karakteristik limbah cair yang berwarna gelap, berbau bahkan menghasilkan gas menjadi salah satu indikasi adanya bakteri fotosintetik anoksigenik. Bakteri fotosintetik anoksigenik (BFA) merupakan kelompok bakteri autotrof yang mampu bertahan hidup pada kadar sulfur tinggi dan mengandung pigmen karotenoid yang berfungsi dalam proses fotosintesis ([Batubara, 2009](#)).

Saat ini, eksplorasi BFA dari berbagai habitat telah banyak dilakukan karena kemampuannya dalam memproduksi pigmen karotenoid. Karotenoid merupakan pigmen berwarna kuning sampai kemerahan yang diproduksi secara alami dan terdistribusi pada beragam makhluk hidup seperti archaea, bakteri, jamur, algae, tumbuhan dan hewan ([Bawias et al., 2018](#); [Manik et al., 2020](#)). Berdasarkan struktur kimianya, karotenoid merupakan senyawa poliena isoprenoid yang terbentuk dari delapan unit isoprene C yang terbagi dalam dua kelompok utama yaitu karoten dan xantofil. Terdapat lebih dari 750 jenis karotenoid yang ditemukan di alam dengan komposisi yang berbeda pada tiap jenis organisme ([Merdekawati et al., 2017](#)). Pigmen karotenoid yang diperoleh dari mikroorganisme memiliki keunggulan dibandingkan organisme lain. Selain produksi yang stabil, mikroorganisme juga membutuhkan waktu pertumbuhan yang relatif singkat dengan biomassa yang tinggi. Saat ini, pemanfaatan pigmen karotenoid telah dilakukan pada berbagai bidang seperti perikanan, farmasi, industri tekstil dan kosmetik dan pengolahan limbah.

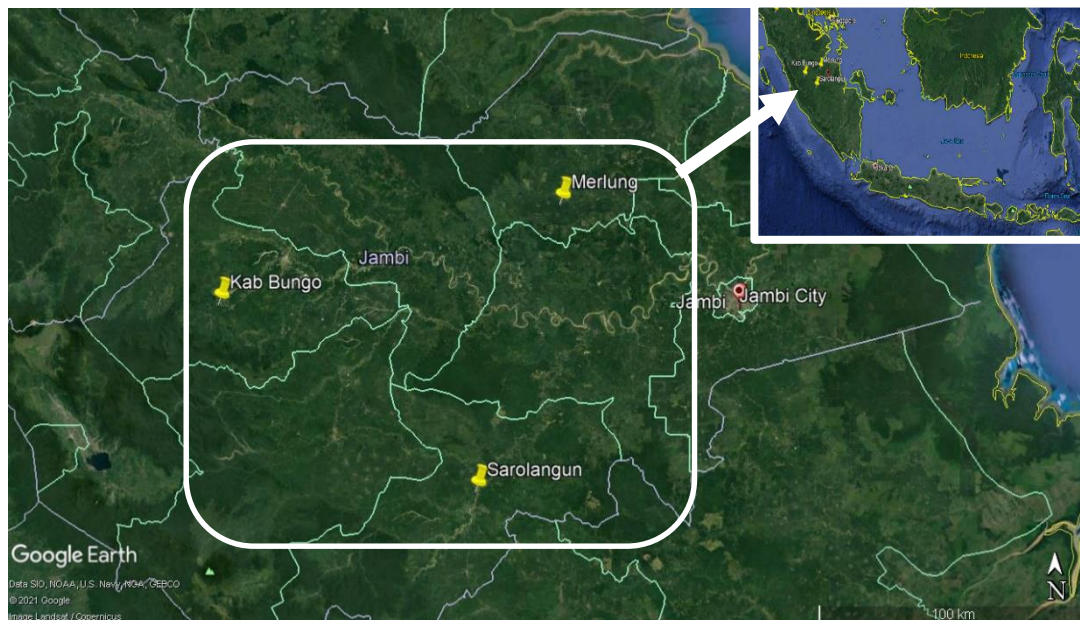
BFA sebagai penghasil pigmen karotenoid dapat digunakan sebagai pakan ikan alami dan probiotik karena memiliki kandungan protein yang tinggi ([Batubara, 2009](#)). Selain itu, kemampuan BFA dalam memanfaatkan H<sub>2</sub>S juga dapat menurunkan kadar polutan pada kolam budidaya. Pemanfaatan BFA dalam bidang industri juga telah banyak dilaporkan. [Setiyono et al., \(2016\)](#) menginformasikan biopigmen yang dihasilkan oleh kelompok mikroorganisme laut dapat digunakan sebagai pewarna alami dalam pembuatan kosmetik, pakaian dan makanan. Pigmen Karotenoid yang berasal dari alam dilaporkan pula memiliki kandungan antioksidan yang dapat meningkatkan sistem imun tubuh, mencegah kanker dan antiobesitas. [Carlozzi et al., \(2010\)](#) menjelaskan BFA sebagai penghasil pigmen karotenoid juga dapat digunakan sebagai energi hijau terbarukan (biodisel dan bio-H<sub>2</sub>). Begitu besarnya pemanfaatan pigmen keratenoid yang

dihasilkan oleh BFA tersebut dan kandungan senyawa organik yang terdapat pada limbah cair kelapa sawit diduga menjadi habitat yang sesuai untuk pertumbuhan BFA. Informasi ini menjadi dasar pentingnya melakukan penelitian tentang skrining dan karakterisasi BFA *indigenous*, dimana penelitian ini dikhususkan pada BFA yang berasal dari limbah cair kelapa sawit.

## **METODE**

### **Waktu dan Tempat**

Penelitian dilakukan mulai bulan Agustus-Desember 2017. Sampel diperoleh dari 3 (tiga) lokasi pembuangan limbah perkebunan sawit di Kabupaten Bungo, Sarolangun dan Merlung, Provinsi Jambi (Lihat Gambar 1.). Analisis sampel dilakukan di dua laboratorium berbeda yaitu Laboratorium Bioteknologi dan Rekayasa Fakultas Sains dan Teknologi dan UPT Laboratorium Dasar dan Terpadu Universitas Jambi.



**Gambar 1.** Peta Lokasi Perolehan Sampel Isolat BFA

### **Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf, hotplate, inkubator, lemari pendingin, mikroskop binokuler, gelas beaker ukuran 500 ml dan 1000 ml, termometer raksa, timbangan analitik, pH meter digital, tabung reaksi, rak tabung, cawan petri, bunsen, lampu pijar 40 watt, kardus persegi ukuran 25x25 cm, jarum spuit ukuran 1 dan 5 ml, kaca objek, penutup objek, penjepit tabung, jarum ose, tisu, kertas label, pensil, pena dan kamera. Adapun bahan yang digunakan adalah sampel limbah cair, media Sulfide Indol Motility (SIM), Triple Sugar Iron Agar (TSIA), media mineral modifikasi, safranin, kristal violet, lugol, aseton alkohol, ekstrak yeast, akuades, alkohol 70%, minyak imersi dan spritus.

### **Prosedur Penelitian**

Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahap diantaranya, (1) Pengambilan sampel limbah cair kelapa sawit yang berasal dari 3 (tiga) lokasi pembuangan limbah perkebunan sawit di Kabupaten Bungo, Sarolangun dan Merlung, dengan deskripsi ciri limbah cair yang digunakan berwarna hitam, bergas dan berbau. Selanjutnya limbah cair yang sesuai kriteria sampel diukur faktor fisik dan kimianya (pH, suhu dan warna), dan dibawa ke laboratorium untuk analisis lebih lanjut; (2) Persiapan media kultur; (3) Isolasi & skrining BFA; (4) Kultur murni isolat; (5) Karakterisasi morfologi dan sifat fisiologis isolat BFA

### ***Persiapan media kultur BFA***

Media pertumbuhan BFA adalah media mineral modifikasi yang terdiri dari Na-asetat 2,5 gr,  $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$  1,25 gr,  $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  0,9 gr,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,6 gr, Yeast Ekstrak 0,5 gr,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,2 gr,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,07 mg,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,003 mg dan EDTA 0,002 mg. Semua bahan kemudian dicampur dan dilarutkan dalam 1000 ml akuades. Setelah semua komposisi media homogen lalu media dimasukkan kedalam masing-masing tabung pial sampai batas maksimum. Media selanjutnya disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C.

### ***Isolasi dan Skrining BFA***

Sebanyak 0,1 ml limbah cair kelapa sawit dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi media mineral modifikasi. Untuk menciptakan kondisi pertumbuhan BFA yang optimum maka kultur ditumbuhkan dalam kondisi anaerob dan dikultur dengan menggunakan cahaya lampu pijar 40 watt. Proses inkubasi dilakukan selama 2 minggu pada suhu  $\pm 28^\circ\text{C}$  hingga terbentuk perubahan warna media. Pertumbuhan BFA ditandai dengan adanya perubahan warna media dari bening menjadi kuning atau kemerahan.

### ***Kultur Murni BFA***

Kultur isolat BFA yang tumbuh pada media mineral modifikasi cair selanjutnya diinokulasi kembali pada media mineral modifikasi agar. Hal ini dilakukan untuk memudahkan pemurnian dan karakterisasi isolat. Media mineral modifikasi agar dibuat dengan komposisi media mineral modifikasic air dengan penambahan 10 g agar (1000 ml aquades). Sebanyak 0,1 ml kultur BFA kemudian di kultur pada media agar steril dengan menggunakan teknik sebar dan gores. Isolat BFA selanjutnya di inkubasi selama 2 minggu secara anerobik menggunakan *laminar jar*.

### ***Karakterisasi Morfologi dan Sifat Fisiologi Isolat BFA***

Setelah bakteri dikultur murnikan maka tahap selanjutnya adalah karakterisasi ciri morfologi dan sifat fisiologis isolat BFA. Karakterisasi ciri morfologi BFA yang diamati meliputi bentuk, ukuran, warna, permukaan, elevasi dan tepi koloni. Sedangkan karakteristik sifat fisiologis isolat BFA dilakukan dengan beberapa uji biokimia yaitu pewarnaan diferensial (Gram), uji katalase, uji gelatin, uji fermentasi gula, uji indol, uji sulfide, uji sitrat dan uji pergerakan bakteri. Hasil analisis karakterisasi ciri morfologi dan sifat fisiologis isolat BFA selanjutnya dianalisis dan disesuaikan berdasarkan kunci identifikasi ([Guchanon, 1992](#)) *Bergeys Manual of Determinative Bacteriology*.



## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pengukuran Faktor Fisik Kimia Limbah Cair

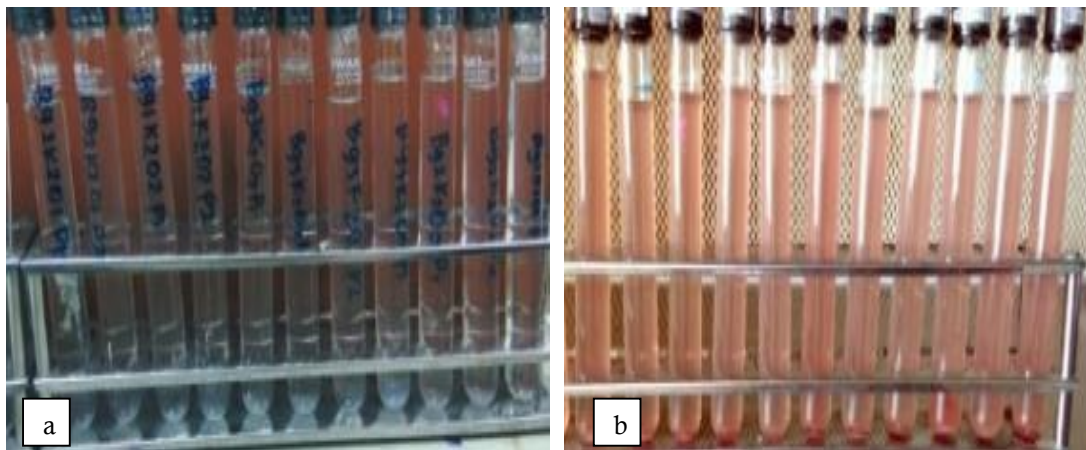
Berdasarkan hasil pengukuran faktor fisik dan kimia limbah cair kelapa sawit (Tabel 1) diperoleh nilai pH, suhu dan warna limbah yang tidak terlalu berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa limbah yang dihasilkan dari aktivitas industri kelapa sawit memiliki karakteristik yang sama yaitu mengandung air, emulsi minyak dan padatan organik seperti H<sub>2</sub>S, Al, Cu dan Fe. Selain itu, warna limbah yang hitam keruh atau kecoklatan mengandung senyawa organik yang diperlukan untuk pertumbuhan bakteri BFA.

Tabel 1. Faktor fisik 3 lokasi perolehan limbah cair kelapa sawit

| Lokasi Sampling | Kode Isolat | Ph   | Suhu | Warna            |
|-----------------|-------------|------|------|------------------|
| Lokasi I        | BgK2        | 7.45 | 30°C | Hitam keruh      |
| Lokasi II       | SIK2        | 7.41 | 30°C | Hitam keruh      |
| Lokasi III      | MrK2        | 7.43 | 30°C | Hitam kecoklatan |

### Isolasi, Skrining dan Kultur BFA

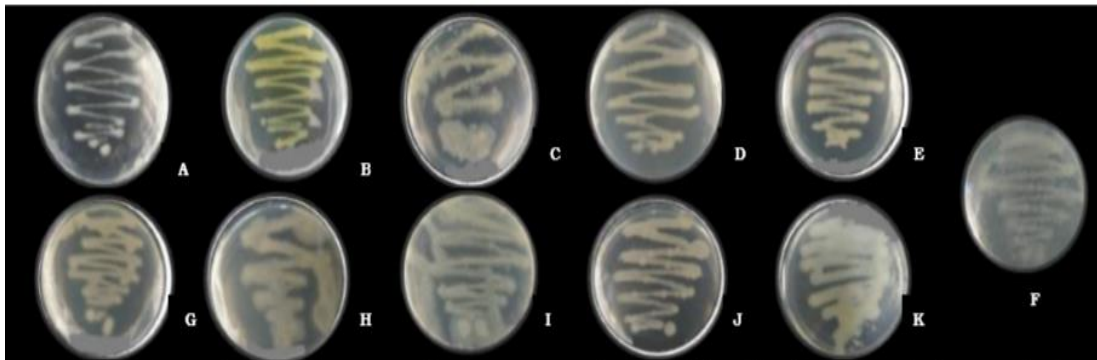
Dari hasil isolasi dan skrining diperoleh sebelas isolat BFA (Gambar 2) yang mampu menghasilkan pigmen karotenoid. Produksi karotenoid oleh isolat BFA terlihat dari adanya pigmen kuning kemerahan yang terdistribusi pada media mineral modifikasi setelah limbah cair diinokulasikan pada media.



Gambar 2. a) Kultur BFA sebelum masa inkubasi. b) Kultur BFA setelah masa inkubasi  $\pm$ 2 minggu.

### Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri

Berdasarkan hasil pengamatan ciri morfologi yang dilakukan terhadap temuan 11 isolat BFA terlihat bahwa tiap-tiap isolat memiliki ciri morfologi yang berbeda (Tabel 2). Isolat BFA dengan ukuran koloni sedang lebih mendominasi dengan warna koloni dominan putih susu. Untuk bentuk, permukaan, elevasi dan tepi koloni secara berurutan didominasi oleh bentuk bulat, permukaan yang halus, elevasi yang mendatar serta tepi koloni yang rata.



**Gambar 3.** Kultur Isolat murni bakteri yang berasal dari limbah cair kelapa sawit (A) Bg1K201, (B) Bg1K202, (C) Bg2k201, (D) Bg3k201, (E) Mr1k201, (F) Mr1k202, (G) S11k201, (H) S11k202, (I) S12k201, (J) S12k202, (K)S13k202

**Tabel 2.** Karakteristik ciri morfologi isolat BFA

| No. | Kode Isolat | Ciri Morfologi |            |                 |                 |             |              |
|-----|-------------|----------------|------------|-----------------|-----------------|-------------|--------------|
|     |             | Ukuran         | Warna      | Bentuk          | Permukaan       | Elevasi     | Tepi         |
| 1.  | Bg1K101     | Titik          | Putih Susu | Bulat           | Halus           | Datar       | Rata         |
| 2.  | Bg1K102     | Sedang         | Putih      | Tidak beraturan | Halus           | Tidak datar | Rata         |
| 3.  | Bg2K101     | Kecil          | Putih      | Bulat           | Kasar           | Datar       | Bergelombang |
| 4.  | Bg3K101     | Sedang         | Putih Susu | Bulat           | Berkerut        | Datar       | Bergelombang |
| 5.  | Mr1K101     | Titik          | Putih Susu | Bulat           | Halus mengkilap | Datar       | Rata         |
| 6.  | Mr1K102     | Kecil          | Putih Susu | Bulat           | Halus mengkilap | Datar       | Rata         |
| 7.  | S11K201     | Kecil          | Krem       | Bulat           | Halus           | Tidak datar | Rata         |
| 8.  | S11K202     | Sedang         | Putih      | Tidak beraturan | Halus           | Tidak datar | Rata         |
| 9.  | S12K201     | Titik          | Putih susu | Bulat           | Halus mengkilap | Cembung     | Rata         |
| 10. | S12K202     | Sedang         | Putih susu | Bulat           | Halus mengkilap | Cembung     | Rata         |
| 11. | S13K202     | Sedang         | Putih      | Tidak beraturan | Halus           | Tidak datar | Rata         |

Setelah diperoleh hasil berdasarkan ciri morfologi isolat BFA maka selanjutnya menyamakan data dengan hasil karakterisasi fisiologi (Tabel 3). Hal ini perlu dilakukan untuk mencegah kesalahan dalam penentuan genus BFA. Dari hasil uji biokimia yang dilakukan maka diperoleh data sebagai berikut: dari kesebelas isolat yang diamati bentuk dan ukuran selnya maka semua isolat berbentuk batang dengan sifat gram (-). Selain itu, berdasarkan data uji sulfida diperoleh tiga isolat (Bg1k201, Bg1k202 dan S11k202) yang mampu memanfaatkan sulfida sebagai sumber nutrisinya; semua isolat bersifat anoksigenik dan tidak mampu menghidrolisis indol, enam isolat (Bg1k202, Bg2k201,

Mr1k201, Mr1k202, SI2k201 dan SI2k202) bersifat motil dan hanya satu isolat (Bg2k201) yang mampu menghidrolisis sitrat serta sebagian besar bakteri yang mampu memfermentasi monosakarida dan polisakarida yaitu (glukosa, laktosa, laktosa dan pati).

**Tabel 3.** Karakteristik Sifat Fisiologis isolat BFA

| No | Kode Isolat | Bentuk Gram | Katalase | Sulfida | indol | Motility | Glu | Suk | Lak | Gel | Sitrat | Hidrolisis pati |   |
|----|-------------|-------------|----------|---------|-------|----------|-----|-----|-----|-----|--------|-----------------|---|
| 1  | Bg1k201     | Batang      | -        | -       | +     | -        | -   | +   | +   | +   | +      | -               | + |
| 2  | Bg1k202     | Batang      | -        | -       | +     | -        | +   | +   | -   | -   | +      | -               | + |
| 3  | Bg2k201     | Batang      | -        | -       | -     | -        | +   | -   | -   | -   | -      | +               | + |
| 4  | Bg3k201     | Batang      | -        | -       | -     | -        | -   | +   | -   | -   | +      | -               | + |
| 5  | Mr1k201     | Batang      | -        | -       | -     | -        | +   | +   | +   | +   | +      | -               | + |
| 6  | Mr1k202     | Batang      | -        | -       | -     | -        | +   | +   | +   | +   | +      | -               | + |
| 7  | SI1k201     | Batang      | -        | -       | -     | -        | -   | +   | -   | -   | -      | -               | - |
| 8  | SI1k202     | Batang      | -        | -       | +     | -        | -   | +   | +   | +   | -      | -               | - |
| 9  | SI2k201     | Batang      | -        | -       | -     | -        | +   | +   | +   | +   | -      | -               | - |
| 10 | SI2k202     | Batang      | -        | -       | -     | -        | +   | +   | +   | +   | -      | -               | + |
| 11 | SI3k202     | Batang      | -        | -       | -     | -        | -   | +   | +   | +   | +      | -               | + |

Keterangan: (+) Hasil uji positif dan (-) hasil uji negatif

## Pembahasan

### Isolasi dan Skrining BFA

Sebanyak sebelas isolat diperoleh dari hasil skrining BFA yang berasal dari limbah cair kelapa sawit. Limbah cair yang memiliki karakteristik warna hitam dan kecoklatan diperoleh dari tiga lokasi pembuangan limbah cair kelapa sawit di Provinsi Jambi diduga mengandung bakteri belerang dan besi yang mampu mereduksi sulfat menjadi H<sub>2</sub>S. Kondisi limbah yang kaya nutrisi organik menjadi indikasi melimpahnya BFA. Secara alami, BFA ditemukan pada lingkungan perairan seperti air laut, payau, sungai, danau serta limbah cair industri dan domestik. Walaupun ditemukan pada beragam lingkungan perairan, akan tetapi BFA dilaporkan mampu melakukan proses fotosintesis tanpa bantuan air, namun menggunakan senyawa organik dan anorganik seperti H<sub>2</sub>S, Nitrit, FeS dan Amonia. Menurut [Frigaard, 2016](#); [Madukasi et al., 2011](#)) bahwa BFA mampu memanfaatkan senyawa kimia seperti logam dalam proses pertumbuhannya dengan cara menyerap ion logam Cd<sup>2+</sup> (kadmium) yang tinggi dan terakumulasi dalam sel menjadi logam dasar lalu disimpan kedalam selnya sehingga lingkungan yang awalnya beracun menjadi kurang beracun. Limbah cair mengandung senyawa organik yang dapat dimanfaatkan oleh aktifitas BFA jenis *Rhodospseudomonas* sp. dan *Rhodobacter* sp.

Dalam melakukan isolasi dan skrining BFA, proses kultur yang tepat menjadi salah satu penentu keberhasilan. Penggunaan lampu pijar 40 watt dan pengkulturan bakteri dalam kondisi anaerobik akan mempermudah proses skrining BFA. Namun sebaliknya, penggunaan cahaya lampu yang berlebih dapat menghambat pertumbuhan BFA. Menurut [Madigan & Jung, \(2009\)](#) pertumbuhan mikroorganisme terutama bakteri

fotosintetik anoksigenik membutuhkan distribusi cahaya yang sangat banyak dan dipengaruhi kondisi faktor fisik lingkungan. Selain itu [Zhang & Hu, \(2015\)](#) juga menjelaskan bahwa intensitas cahaya merupakan salah satu faktor penting yang menentukan laju pertumbuhan BFA. Berdasarkan hasil skrining BFA terlihat bahwa kesebelas isolat yang diperoleh mampu memproduksi pigmen karotenoid yang terlihat dengan adanya perubahan warna media dari bening menjadi kemerahan. Hal ini membuktikan bahwa pigmen yang terdistribusi pada media pertumbuhan dihasilkan dari metabolisme sel BFA.

BFA adalah kelompok bakteri penghasil pigmen karotenoid yang banyak ditemukan di alam. BFA yang menghasilkan pigmen karotenoid telah banyak dimanfaatkan peneliti dalam upaya pengolahan limbah. BFA berjenis *Rhodobacter* sp., *Rhoseobacter* sp., *Sandaracinabacter* sp., dan *Erythrobacter* sp. mampu menurunkan konsentrasi air limbah yang tinggi ammonia, nitrit, nitrat dan hydrogen sulfide ([Lin et al., 2018](#); [Tang et al., 2018](#)). *Rhodobacter* mampu mendegradasi limbah cair organik dan anorganik sehingga kurang beracun bagi lingkungan dan telah pula dimanfaatkan sebagai biokontrol dan biokondisioner di lingkungan perairan ([Madukasi et al., 2011](#)).

Setelah isolat BFA diperoleh maka selanjutnya dilakukan karakterisasi ciri morfologi dan sifat fisiologi yang merujuk pada kunci determinasi *Bergey's Manual of Determinative Bacteriologi* ([Guchanon, 1992](#)). Berdasarkan hasil pengamatan ciri morfologi dan pewarnaan diferensial (Gram) menunjukkan bahwa seluruh isolat tergolong Gram negatif dengan sel berbentuk batang. Pada saat pengkulturan terlihat pula cairan lendir (mukus) yang terdapat pada permukaan isolat BFA. Menurut [Lunina et al., \(2005\)](#) BFA menghasilkan mukus pada saat pertumbuhannya. Mukus pada BFA berperan dalam mekanisme pertahanan saat lingkungan kurang mendukung seperti kekeringan. Adanya mukus pada koloni bakteri merupakan salah satu ciri dari BFA. Dari hasil identifikasi dan karakterisasi yang telah dilakukan berdasarkan ciri morfologis dan sifat fisiologis isolat maka diperoleh dua genus BFA penghasil pigmen karotenoid yang berasal dari limbah cair kelapa sawit yaitu *Rhodobacter* dan *Rhodopseudomonas*.

***Rhodobacter***. Menurut [Guchanon \(1992\)](#) dalam *Bergey's Manual of Determinative Bacteriologi*, genus *Rhodobacter* memiliki ciri berbentuk batang, menghasilkan pigmen karotenoid merah, motil maupun nonmotil, mampu menghasilkan sulfid sebagai donor elektron, menghasilkan mukus (lendir), suhu optimum pertumbuhan sekitar 25°C - 35°C dan pH optimum 6,5 – 7,5 ([Guchanon, 1992](#)). Berdasarkan hasil identifikasi pada isolat Bg1k201, Bg1k202, Bg3k201, S11k201, S11k202, S12k201, S12k202, S13k202 menunjukkan kesamaan ciri morfologi dan sifat fisiologis dengan genus *Rhodobacter*. Ciri morfologi koloni yaitu berukuran sangat kecil (*pin point*), warna putih susu, permukaan halus, elevasi datar dan margin rata. Selanjutnya untuk sifat fisiologi yaitu sel berbentuk batang, tergolong Gram negatif, katalase negatif, sulfida positif (memproduksi H<sub>2</sub>S), indol negatif, motil maupun nonmotil, TSIA positif maupun negatif, gelatin positif maupun negatif, sitrat negatif, dan *starch agar* positif. Hal ini diperkuat oleh penelitian [Suresh et al., \(2017\)](#) bahwa ciri morfologi spesies *Rhodobacter azollae* dan *Rhodobacter lacus* menghasilkan kultur merah, berbentuk batang, motil dan bersifat Gram negatif dan untuk *Rhodobacter velkampii* tidak menghasilkan mukus ([Imhoff, 2015](#)).



*Rhodopseudomonas*, Guchanon (1992) menjabarkan ciri morfologi genus *Rhodopseudomonas* memiliki bentuk batang, motil maupun nonmotil, Gram negatif, menghasilkan pigmen karotenoid merah, hijau hingga cokelat kekuningan, menghasilkan vitamin, suhu optimum pertumbuhan sekitar 25°C - 35°C dan pH optimum 5,5 – 7,5. Berdasarkan hasil identifikasi pada isolat Bg2k201, Mr1k201 dan Mr1k202 menunjukkan kesamaan ciri morfologi dan sifat fisiologis dengan genus *Rhodopseudomonas*. Ciri morfologi koloni yaitu berukuran sangat kecil (*pin point*), warna putih susu, permukaan halus mengkilap, elevasi datar, margin rata. Selanjutnya untuk sifat fisiologi yaitu sel berbentuk batang, tergolong Gram negatif, katalase negatif, sulfida negatif (tidak menghasilkan H<sub>2</sub>S), indol negatif, nonmotil, glukosa positif, laktosa positif, sukrosa positif, gelatin positif, sitrat negatif, dan *starch agar* positif. Hal ini diperkuat oleh penelitian (Zhang & Hu (2015) yang menyebutkan bahwa *Rhodopseudomonas faecalalis* yang berasal dari Sungai Fenhe di China diisolasi secara anaerob dan dikultur dengan memanfaatkan cahaya untuk membantu proses fotosintesis, menghasilkan kultur merah, bersifat Gram negatif dan berbentuk batang. *Rhodopseudomonas palustris* berasal dari air limbah pengolahan sagu, tidak menghasilkan mukus dan pertumbuhannya secara anaerob dengan memanfaatkan cahaya sebagai proses fotosintesis. *Rhodopseudomonas* sp. berasal dari tanah terkontaminasi herbisida *sulfonilurea pirazosulfuron-etil* (PSE) bersifat gram negatif.

## KESIMPULAN

Dari hasil skrining penelitian yang dilakukan ditemukan 11 (sebelas) isolat BFA. Isolat BFA berhasil diidentifikasi sebagai bakteri tergolong yang gram negatif dari genus *Rhodobacter* (Bg1k201, Bg1k202, Bg3k201, S11k201, S11k202, S12k201, S12k202 & S13k202) dan genus *Rhodopseudomonas* (Bg2k201, Mr1k201 & Mr1k202). Karakterisasi isolat BFE menunjukkan kemampuannya dalam menghasilkan pigmen karotenoid yang berwarna kuning kemerahan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Batubara, U. M. (2010). Pembuatan Pakan Ikan Dari Protein Sel Tunggal Memanfaatkan Limbah Cair Tepung Tapioka Yang Diuji Pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). [Skripsi Biologi Universitas Sumatera Utara]. 59 halaman.
- Bawias, M., Kemer, K., Mantiri, D., Kumampung, D., Paransa, D., & Mantiri, R. (2018). Isolasi Pigmen Karotenoid Pada Mikroalga *Nannochloropsis* sp. dengan Menggunakan Beda Pelarut. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*, 6(2): 1-8. <https://doi.org/10.35800/jplt.6.2.2018.20641>
- Carlozzi, P., Pintucci, C., Piccardi, R., Buccioni, A., Minieri, S., & Lambardi, M. (2010). Green Energy from *Rhodopseudomonas palustris* Grown At Low to High Irradiance Values, Under Fed-Batch Operational Conditions. *Biotechnology Letters*, 32: 477-481. <https://doi.org/10.1007/s10529-009-0183-2>
- Frigaard, N. U. (2016). Biotechnology of Anoxygenic Phototrophic Bacteria. In *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. Springer Link Publisher.

- 
- pp 139-154. [https://doi.org/10.1007/10\\_2015\\_5006](https://doi.org/10.1007/10_2015_5006)
- Guchanon, E. dan E. G. (1992). *Bergeys Manual of Deteminate Bacteriology*. In *The Biochemical journal*. San Diego, California. Academic Press. pp 1246.
- Imhoff, J. F. (2015). Rhodobacter . In *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. *Wiley Online Library*. Publisher by John Wiley & Sons, Inc. pp 342. <https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm00862>
- Lin, S., Mackey, H. R., Hao, T., Guo, G., van Loosdrecht, M. C. M., & Chen, G. (2018). Biological Sulfur Oxidation in Wastewater Treatment: A Review of Emerging Opportunities. *ScienceDirect in Water Research*. 143: 399-415. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.06.051>
- Lunina, O. N., Gorlenko, V. M., Solov'eva, O. A., Akimov, V. N., Rusanov, I. I., & Pimenov, N. V. (2005). Seasonal Changes in The Structure of The Anoxygenic Phototrophic Bacterial Community in Lake Mogilnoe, A Relict Lake on Kil'din Island in The Barents Sea. *Mikrobiologiya*. 76(3): 416-424.
- Madigan, M. T., & Jung, D. O. (2009). *An Overview of Purple Bacteria: Systematics, Physiology, and Habitats*. Department of Microbiology. USA : Southern Illinois University. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8815-5\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8815-5_1)
- Madukasi, E. I., Chunhua, H., & Zhang, G. (2011). Isolation and Application of A Wild Strain Photosynthetic Bacterium To Environmental Waste Management. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 23(2): 513-522. <https://doi.org/10.1007/BF03326237>
- Manik, F. K. I., Paransa, D. J., Mantiri, D. M., Ginting, E. L., Warouw, V., & Moningkey, R. (2020). Isolasi Pigmen Karotenoid Pada Kepiting *Metopograpsus* sp. Betina. *Jurnal Pesisir Dan Laut Tropis*, 8(1): 84-92. <https://doi.org/10.35800/jplt.8.1.2020.27494>
- Merdekawati, W., Karwur, F. F., & Susanto, A. B. (2017). Karotenoid Pada Algae: Kajian Tentang Biosintesis, Distribusi Serta Fungsi Karotenoid. *Bioma*, 13(1), 23–32. [https://doi.org/10.21009/bioma13\(1\).3](https://doi.org/10.21009/bioma13(1).3)
- Nursanti, I. (2013). Karakteristik Limbah Cair Pabrik Kelapa Sawit Pada Proses Pengolahan Anaerob dan Aerob. *Jurnal Ilmiah Universitas Batanghari Jambi*, 13(4): 67–73.
- Setiyono, E., Pringgenies, D., Diponegoro, U., Heriyanto, H., & Shioi, Y. (2016). Analisa Pigmen Karotenoid Pada Bakteri *Erythrobacter flavus*. *Marine Drugs*, 17(6): 349-356.
- Sinaga, N., & Nasution, A. S. B. (2016). Simulasi Pengaruh Komposisi Limbah Cair Pabrik Kelapa Sawit (Pome) Terhadap Kandungan Air Biogas dan Daya Listrik Yang Dihasilkan Sebuah Pembangkit Listrik Tenaga Biogas. *Eksergi Jurnal Teknik Energi*, 12(3): 66–72.
- Suresh, G., Sailaja, B., Ashif, A., Dave, B. P., Sasikala, C., & Ramana, C. V. (2017). Description of *Rhodobacter azollae* and *Rhodobacter lacus*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 67(9): 463-464.

<https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002107>

- Tang, K., Jia, L., Yuan, B., Yang, S., Li, H., Meng, J., Zeng, Y., & Feng, F. (2018). Aerobic Anoxygenic Phototrophic Bacteria Promote The Development of Biological Soil Crusts. *Frontiers in Microbiology*, 9(3): 1-12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02715>.
- Zhang, H., & Hu, Q. (2015). Isolation, Identification And Physiological Characteristics Of High Carotenoids Yield *Rhodospseudomonas Faecalis* PSB-B. *Int J Recent Sci Res*, 6(5): 3893-3899.