



Identifikasi Bakteri Pada Biogas Campuran Kotoran Kerbau Dengan Limbah Daun Bawang Merah (*Allium Cepa L*)

Lepiana Pitri, dan Irdawati

Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Padang

Email: lepijanapitri15@gmail.com

ABSTRAK

Produksi biogas memungkinkan pertanian berkelanjutan dengan sistem proses fermentasi dan ramah lingkungan (Widodo et al.2005) salah satunya dengan memanfaatkan campuran kotoran kerbau dengan limbah daun bawang merah (*Allium cepa L*). Tujuan dari penelitian ini adalah Mengidentifikasi bakteri pada biogas campuran kotoran kerbau dengan limbah daun bawang merah (*Allium cepa L*). Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan mengamati karakter makroskopis dan mikroskopis sebagai dasar identifikasi yang dihasilkan oleh bakteri pada biogas kotoran kerbau (Pariaman, Sumatera Barat) dan limbah daun bawang merah dari lahan panjang, Sumatera Barat. Hasil penelitian di peroleh 5 genus bakteri yang berbeda dari 20 isolat bakteri yang diidentifikasi yaitu IS 1, IS 18, IS 19 sebagai *Bacillus* 1, IS 2, IS 3, IS 6 - IS 11, IS 12, IS 13, IS 16, IS 20 sebagai *Enterobacter* IS 4, IS 15, IS 17 sebagai *Proteus*, IS 5 sebagai *Alcaligenes*, IS 12 sebagai *Pseudomonas*

Kata kunci: Biogas, Identifikasi, Bakteri

PENDAHULUAN

Energi adalah kebutuhan yang penting dalam aktivitas manusia. Energi alternatif lain yang dapat digunakan yaitu biogas (Trisnowati et al.2013). Energi biogas adalah salah satu sumber energi terbarukan yang dapat ditemukan pada kotoran, seperti kotoran ayam, sapi, kerbau, limbah organik dari pasar, industri makanan dan sebagainya. Produksi biogas memungkinkan pertanian berkelanjutan dengan sistem proses yang terbarukan dan ramah lingkungan (Widodo et al.2005) salah satunya dengan memanfaatkan campuran kotoran kerbau dengan limbah daun bawang merah (*Allium cepa L*).

Limbah daun bawang merah sekarang ini belum banyak digunakan sebagai sumber energi alternatif. Menurut Munandar et al (2005) pengolahan yang paling cocok dan efektif untuk limbah daun bawang merah adalah dijadikan sebagai biogas. Hal ini didukung dengan terdapatnya glukosa (gula) sekitar 25% pada limbah daun bawang merah dan juga proses dari pembuatan biogas dari limbah daun bawang merah ini tergolong mudah.

Menurut penelitian Nola (2019) Hasil pengukuran volume gas campuran limbah daun bawang merah dengan kotoran kerbau didalam digester (galon) bisa memberikan nutrisi bagi bakteri untuk penghasil biogas. Volume biogas yang dihasilkan dari campuran limbah bawang merah dengan kotoran kerbau menunjukkan hasil tertinggi dibandingkan kotoran kerbau saja tanpa ada penambahan bahan organik lainnya. Populasi bakteri akan meningkat, apabila aktivitas bakteri untuk menghasilkan gas metan dengan komposisi yang lebih besar juga mengalami



peningkatan. Termasuk juga disini ketika populasi bakteri non metanogen meningkat maka produksi dari biogas juga ikut meningkat.

Proses pembuatan biogas ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain ukuran partikel, kadar air, rasio C/N (kotoran Sapi C/N sebesar 18), Suhu, pH 6,8-8, dan waktu tinggal bahan di dalam digester (galon/wadah), untuk kotoran sapi diperlukan 20-30 hari sampai bisa memproduksi biogas (Trisnarningsih.2015). Menurut Haryati (2006) produksi biogas dari hasil kotoran kerbau sebanyak 0,023-0,040 per kg (m^3) dengan menghasilkan gas metan (CH_4) sekitar 60-70% yang bila dibakar akan menghasilkan biogas sekitar 1000 *British Thermal Unit/ ft³* atau 252 kkal/0,028 m^3 . Pada campuran Limbah daun bawang merah dengan kotoran kerbau ini juga terdapat mikroorganisme seperti bakteri, fungi dan jamur (Munandar et al 2015).

Tiga kelompok bakteri yang berperan dalam proses pembentukan biogas yaitu kelompok bakteri fermentasi, asetogenik dan penghasil gas metan. Kelompok bakteri fermentasi yaitu *Streptococcus* dan beberapa jenis *Enterobacteriaceae*. Bakteri asetogenik yaitu *Desulfovibrio* dan bakteri penghasil gas metan yaitu *Mathanobacterium*, *Mathanosacaria* dan *Mathanococcus* (Anggrani.2012). Menurut Hidayati (2013) ditemukan bakteri pada feses domba yaitu *Enterobacter sp. Bacillus sp. Escherichia coli*.

Mengidentifikasi bakteri yang terdapat pada biogas dapat dilakukan dengan melihat karakteristik mikroskopis yang sangat membantu dalam tahap identifikasi. Namun bakteri dengan bentuk yang sama berkemungkinan memiliki aktivitas metabolisme dan fisiologis yang berbeda. Karakteristik biokimia juga diperlukan untuk menentukan suatu jenis bakteri. Bahkan bakteri yang terkait dekat dapat dipisahkan ke suatu spesies tertentu dengan uji biokimia, salah satunya ditentukan dengan kemampuan mereka dalam memfermentasikan sekelompok karbohidrat pilihan (Tortora et al.2013).

Saat ini telah banyak dikembangkan berbagai macam uji biokimia, seperti uji TSI (*Triple Sugar Iron*), produksi gas, produksi H_2S , katalase, oksidase, motilitas, IMViC (*Indole, Methyl-Red, Voges Proskauer, Citrate*), urease, OF (Oksidatif-fermentatif) dan fermentasi berbagai macam karbohidrat (glukosa, sukrosa, laktosa, mannitol, sorbitol, arabinosa dan lain-lain), hidrolisis kasein, gelatin, dan masih banyak uji lainnya. Berbagai uji tersebut dapat digunakan untuk menentukan genus atau bahkan jenis suatu bakteri (Prescott.2002). Eksplorasi jenis bakteri hasil identifikasi, dapat digunakan untuk pengembangan potensi bakteri dalam memproduksi biogas secara maksimal.

Dari berbagai uraian di atas, peneliti melakukan penelitian tentang “Identifikasi bakteri pada biogas campuran kotoran kerbau dengan limbah daun bawang merah (*Allium cepa* L).”



METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan dari bulan April sampai bulan September 2019 di Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Penelitian Terpadu Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang dan Balai Verteriner Bukit Tinggi.

Pengambilan sampel dengan cara, sampel biogas limbah bawang merah dan kotoran kerbau diambil pada hari terakhir fermentasi biogas. Sampel biogas yang terdapat di dalam digester dituangkan di dalam wadah (Ember) lalu dibagi menjadi 8 titik pengambilan sampel dan memasukkannya kedalam kantong plastik lalu diikat dengan karet. Sampel selanjutnya dibawa ke laboratorium mikrobiologi jurusan biologi FMIPA UNP untuk dibiakan dan diidentifikasi.

Dilanjutkan dengan pembiakan sampel uji dengan cara sampel diambil sebanyak 10 mL pada masing – masing titik. Lalu dimasukkan ke dalam aquades steril sampai mencapai volume 100 mL. kemudian dibuat suspensi dengan konsentrasi 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} (1 mL suspensi diambil dengan mikropipet dan ditambahkan ke dalam 9 mL aquades steril lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dihomogenkan dengan *vortex* sampai pengenceran yang terakhir atau 10^{-3}). Ambil 1 mL dari setiap pengenceran kemudian teteskan kedalam *petridish* yang terdapat media NA. Selanjutnya di diratakan menggunakan *dirrglass*, di *wrapping* kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 1 x 24 Jam atau lebih.

Pemurnian bakteri dilakukan dengan mengambil satu ose tiap koloni bakteri yang tumbuh berbeda pada medium NA sebelumnya dan diinokulasikan dengan ose ke cawan petri baru yang terdapat medium NA. Hal ini dilakukan sampai didapatkan kultur murni bakteri yang hidup pada limbah biogas bawang merah dan kotoran kerbau. Biakan bakteri diambil dengan jarum ose dan dicampurkan dengan aquades steril yang ada pada kaca objek. Biakan tersebut disebar dan dibuat campuran yang tipis dan merata pada suatu area dengan diameter sekitar 1 cm, Suspensi dibiarkan kering (pelczar dan chan, 2005) Apusan digenangi dengan kristal violet selama 1 menit, selanjutnya dicuci dengan air mengalir menggunakan botol semprot. Apusan digenangi kembali dengan lugol selamat 1 menit, selanjutnya apusan dicuci dengan air mengalir. Apusan dilunturkan dengan menggunakan etil alkohol 95% setetes demi setetes sehingga kristal violet tidak ada lagi yang mengalir dari apusan, kemudian dicuci dengan air mengalir. Selanjutnya apusan diwarnai dengan pewarnaan safranin selama 45 detik kemudian dicuci dengan air mengalir. Setelah tahap tersebut selesai, apusan diamati di bawah mikroskop (Pelczar dan Chan, 2005).

Uji Biokimia yang dilakukan adalah uji TSI (*Triple Sugar Iron*), produksi gas, produksi H₂S, katalase, oksidase, motilitas, IMViC (*Indole, Methyl-Red, Voges Proskauer, Citrate*), urease, OF (Oksidatif-fermentatif) dan fermentasi berbagai macam karbohidrat (glukosa, sukrosa, laktosa, mannitol, sorbitol, arabinosa dan lain-lain), hidrolisis kasein, gelatin, dan masih banyak uji lainnya.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Identifikasi isolat bakteri dari biogas berdasarkan karakteristik morfologi

Hasil isolasi bakteri dari biogas campuran kotoran kerbau dengan limbah daun bawang merah (*Allium cepa* L.) diperoleh 20 isolat bakteri yang berbeda berdasarkan karakteristik morfologinya yaitu bentuk, tepian, elevasi dan warna koloni. Hasil pengamatan terhadap karakteristik morfologi koloni bakteri hasil fermentasi biogas, 2 isolat diantaranya dapat dilihat pada tabel 1.

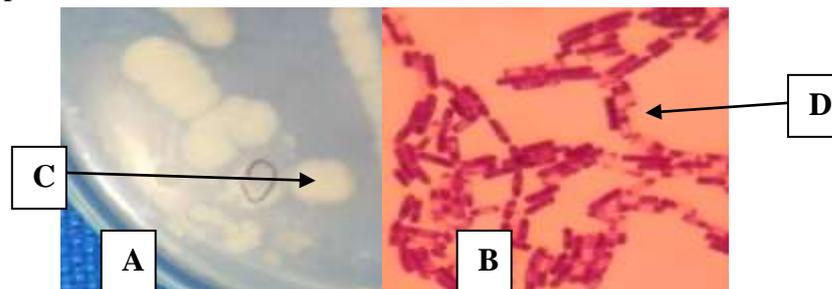
Tabel 1. Karakteristik morfologi koloni bakteri pada biogas

No	Isolat	Bentuk Koloni	Tepian Koloni	Elevasi Koloni	Warna koloni
1	IS 1	Bundar	Tidak beraturan	Datar	Putih
2	IS 15	Bundar	Berombak	Datar	Putih

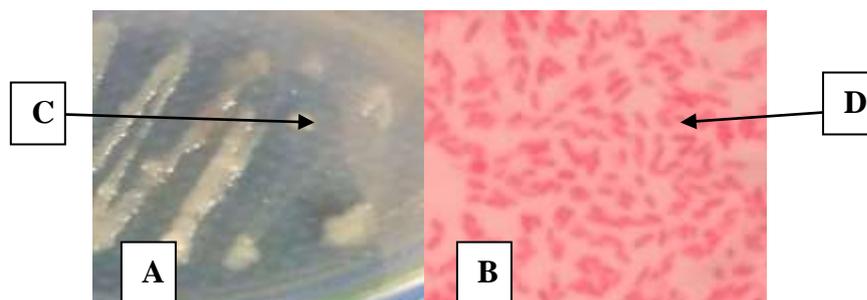
Keterangan : IS = Isolat bakteri

2. Identifikasi isolat bakteri dari biogas berdasarkan karakteristik uji biokimia

Berdasarkan penelitian yang dilakukan terdapat 2 bentuk pengamatan seperti yang terlihat pada Gambar 1 dan Gambar 2



Gambar 1. (A) bentuk makroskopis (B) Bentuk mikroskopik (C) koloni bacillus (D) sel bacillus



Gambar 2. (A) bentuk makroskopis (B) Bentuk mikroskopik (C) koloni Proteus (D) sel proteus

Isolat 1 teridentifikasi sebagai *Bacillus*, termasuk ke dalam bakteri aerob yang berbentuk basil (batang) besar dan merupakan bakteri gram positif (+). *Bacillus* memiliki warna putih, bentuk koloni bundar dengan tepian koloni tidak



beraturan dan elevasi koloni datar. Uji TSIA k/k menunjukkan sifat asam dari bakteri, uji MR dan VP positif. *Bacillus* memiliki endospora. Hasil uji motilitas, VP dan gelatin positif (+), sedangkan uji biokimia yang lain memiliki hasil negatif (-). Klasifikasi bakteri ini berdasarkan Robert (1957) dan Holt (1994) adalah kingdom Bacteria, filum Firmicutes, kelas Schizomycetes, ordo Bacillales, famili Bacillaceae, genus *Bacillus*, spesies *Bacillus sp.* Endospora yang dihasilkan oleh *Bacillus* mempunyai ketahanan yang tinggi terhadap faktor kimia dan fisika, seperti suhu ekstrim, alkohol, dan sebagainya. berperan dalam nitrifikasi dan denitrifikasi; pengikat nitrogen; pengoksidasi selenium; pengoksidasi dan pereduksi mangan (Mn); bersifat khemolitotrof, aerob atau fakultatif anaerob, asidofilik atau alkalifilik, psikoprifilik, atau termofilik (Norris *et al.* 1981; Claus & Barkeley 1986 dalam Hatmanti.2002).

Isolat 15 teridentifikasi sebagai *Proteus*, termasuk kedalam bakteri aerob dengan bentuk oval basil sama dengan termasuk kedalam bakteri gram negatif. *Proteus* Memiliki bentuk koloni bundar, tepian koloni berombak, elevasi koloni datar dan warna koloni putih. Pada uji gas dan H₂S menunjukkan hasil positif (+). Pada uji TSIA menunjukkan hasil kuning/hitam, warna hitam menunjukkan bahwa isolat ini memiliki H₂S. Warna kuning menunjukkan sifat asam dari bakteri, sedangkan uji biokimia yang lain memiliki hasil negatif (-).

Klasifikasi bakteri ini berdasarkan Robert, (1957) adalah kingdom Bacteria, filum Proteobacteria, kelas Gamma proteobacteria, ordo Enterobacteriales, famili Enterobacteriaceae, Genus *proteus*, spesies *Proteus sp.* Bakteri *Proteus* merupakan salah satu anggota dari famili Enterobacteriaceae. Enterobacteriaceae merupakan kelompok bakteri gram negatif berbentuk batang yang habitat alaminya berada pada sistem usus manusia dan binatang. Enterobacteriaceae merupakan fakultatif anaerob atau aerob yang dapat memfermentasikan karbohidrat, memiliki struktur antigenik yang kompleks, dan menghasilkan berbagai toksin yang mematikan. (Jawetz, 2005)

PENUTUP

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan. Didapatkan 5 genus dari 20 isolat bakteri yang teridentifikasi yaitu IS 1, IS 18, IS 19 sebagai *Bacillus*, IS 2, IS 3, IS 6 - IS 11, IS 12, IS 13, IS 16, IS 20 sebagai *Enterobacter*, IS 4, IS 15, IS 17 sebagai *Proteus*, IS 5 sebagai *Alcaligenes*, IS 12 sebagai *Pseudomonas*.

REFERENSI

- Anggraini, D., Mutiara B.P dan David B 2012. *Pengaruh jenis sampah, komposisi masukan dan waktu tinggal terhadap komposisi biogas dari sampah organik*. Palembang : universitas sriwijaya. No. 1, vol. 18
- Haryati, Tuti, 2002, *Biogas : Limbah Peternakan Yang Menjadi Sumber Energi Alternatif*, Balai Penelitian Ternak Bogor.



- Hatmanti, Ariani.2002.*Pengenalan Bacillus spp.*Oseana, Volume XXV, Nomor 1, 2000 : 31-41.ISSN 0216- 1877
- Hidayanti,Y. A., Ellin H., dan Eulis T. M.2010.*Deteksi Jumlah Bakteri Dan Koliform Pada Lumpur Hasil Ikutan Pembentukan Gasbio Dari Feses Sapi Perah.*Jurnal ilmu ternak vol. 10 no. 1 hal : 17-20
- Holt.J.G., N.R. Krig, P. Sneath, J. Staley, dan S. Williams, *Bergeys Manual Of Determinative Bacteriology 9th Edition.* Lipincott Williams and Wilkins Company. Philadelphia USA (1994).
- Jawezt.2005.*Mikrobiologi kedoktera.*Jakarta : Salemba Medika
- Munandar K., Yanuar R., dan Nurul A. 2015. Biogas Dari Limbah Daun Bawang Merah Sebagai Sumber Energi Rumah Tangga Alternatif Di Kabupaten Brebes *PKM- Penerapan Teknologi.* Semarang : Universitas Negeri Semarang.
- Nola, P.S. 2019. Potensi Campuran Limbah Bawang merah (*Allium cepa L.*)dan Kotoran Kerbau Sebagai Penghasil Biogas. *Skripsi.* Padang : Universitas Negeri Padang.
- Pelzar, M.J, dan E.C.S.Chan.2005.*Dasar-dasar mikrobiologi.*Terjemahan oleh hadioetomo. Jakarta : UI Press.
- Prescott, H. 2002. *Laboratory Exercise in Microbiology, 5th Ed.* New York : McGraw Hill.
- Robert S. Breed, E.G.D. Murray and Nathan R. Smith. 1957. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology seventh edition.* The Williams and Wilkins Company. United State of America.
- Tortora, G. J., B. R. Funke and C. L. Case. 2013. *Microbiology, An Introduction, 11st Ed.* San Franscisco: Pearson Education Inc.
- Trisnarningsih, A dan Sri W.2015.*Sampah Dapur Dan Sampah Daun Dengan Campuran Kotoran Sapi Untuk Pembuatan Biogas.* ISSN 0853-4403 Vol. 65, No. 2
- Trisnowati, D.A dan Sugito.2013.*Pembuatan Biogas Dari Limbah Cair Pabrik Tahu Dengan Tinja Sapi.* Jurnal Teknik Vol. 11 No. 02 ISSN : 1412-1867 55
- Widodo, T. W., dan Agung H.2005.*Development for Small Scale Cattle Farm Level in Indonesia.* International Seminar on biogas technology for poverty reduction and sustainable development.China:beijing