ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENAMBAT NITROGENNONSIMBIOSISPADALIMBAH*SLUDGE* SAWIT DI PERKEBUNAN SAWIT KECAMATAN MANISMATA KABUPATEN KETAPANG

VANYARIZVIEAULIA
H1041221073

SKRIPSI

PROGRAMSTUDIBIOLOGI
FAKULTASMATEMATIKADANILMUPENGETAHUANALAM
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
PONTIANAK
2026

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENAMBAT NITROGENNONSIMBIOSISPADALIMBAH*SLUDGE* SAWIT DI PERKEBUNAN SAWIT KECAMATAN MANISMATA KABUPATEN KETAPANG

VANYARIZVIEAULIA
H1041221073

Skripsi
Sebagaisalahsatusyaratuntukmemperolehgelar
Sarjana Sains pada Program Studi Biologi

PROGRAMSTUDIBIOLOGI
FAKULTASMATEMATIKADANILMUPENGETAHUANALAM
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
PONTIANAK
2026

LEMBAR PENGESAHAN

Judul Tugas Akhir	: Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penambat Nitrogen Non Simbiosis pada Limbah *Sludge* Sawit di Perkebunan Sawit Kecamatan Manismata Kabupaten Ketapang
Nama Mahasiswa	: Vanya Rizvie Aulia
NIM	: H1041221073
Jurusan/Program Studi	: Biologi
Tanggal Lulus	: 31 Juli 2026
SK Pembimbing	: No. 3516/UN22.8/TD.06/2025 /Tanggal 08 Oktober 2025
SK Penguji	: No. 5438/DST/UN22.8/DT.00.09/2026/Tanggal 14 Agustus 2026

Dosen Pembimbing

Pembimbing I	Pembimbing II
Prof. Dr. Dra. Siti Khotimah, S.Si., M.Si.	Rahmawati, S.Si., M.Sc.
196702021997022001	198404092008122002

Dosen Penguji

Ketua Penguji	Anggota Penguji
Rikhsan Kurniatuhadi, S.Si., M.Si.	Mukarlina, S.Si., M.Si.
198903042023211018	196804062000032001

Pimpinan Sidang (merangkap anggota penguji)	Sekretaris Sidang (merangkap anggota penguji)
Prof. Dr. Dra. Siti Khotimah, S.Si., M.Si.	Rahmawati, S.Si., M.Sc.
196702021997022001	198404092008122002

Mengesahkan
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Tanjungpura

Prof. Dr. Gusrizal, S.Si., M.Si
197108022000031001

PERNYATAAN INTEGRITAS AKADEMIK

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama	: Vanya Rizvie Aulia
NIM	: H1041221073
Program Studi/ Jurusan	: Biologi/Biologi
Fakultas	: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

dengan ini menyatakan bahwa dokumen ilmiah Tugas Akhir yang disajikan ini tidak mengandung unsur pelanggaran integritas akademik sesuai Peraturan Menteri Pendidikan, Kebudayaan, Riset, Dan Teknologi Republik Indonesia Nomor 39 Tahun 2021. Apabila di kemudian hari dokumen ilmiah Tugas Akhir ini mengandung unsur pelanggaran integritas akademik sesuai ketentuan perundangan tersebut, maka saya bersedia menerima sanksi akademik dan/atau sanksi hukum yang berlaku.

Demikian pernyatan ini untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Pontianak, 31 Juli 2026



Vanya Rizvie Aulia
H1041221073

IsolasidanIdentifikasiBakteriPenambatNitrogenNonSimbiosis pada Limbah *Sludge* Sawit di Perkebunan Sawit Kecamatan Manismata Kabupaten Ketapang

Abstrak

Bakteri penambat nitrogen non simbiosis diisolasi dan diidentifikasi dari limbah *sludge* sawit di Perkebunan Sawit Kecamatan Manismata, Kabupaten Ketapang untuk mengetahui kepadatan bakteri, potensi penambatan nitrogen, dan genus yang berhasil diperoleh. Isolasi dilakukan menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN) pada media *Nitrogen Free Bromothymol Blue* (Nfb), dilanjutkan dengan pemurnian isolat, pengujianpotensiberdasarkankonsentrasiamoniamenggunakan*SeraAmmoniumTestKit*, karakterisasimorfologidanfisiologimelaluiujibiokimia,sertaidentifikasisecarafenotipik mengacu pada *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Data karakter fenotipik dianalisis secara numerik menggunakan metode *Simple Matching Coefficient* dan dikelompokkan dengan metode *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean* (UPGMA)menggunakanperangkatlunakMVSP.Hasilpenelitianmenunjukkankepadatan bakteri penambat nitrogen non simbiosis sebesar $3{,}3 \times 10^5$ MPN/mL. Sebanyak 14 isolat berhasil diisolasi dan seluruhnya memiliki kemampuan menambat nitrogen, dengan 12 isolat menghasilkan amonia sebesar 5,0 mg/L dan 2 isolat sebesar 3,0 mg/L. Berdasarkan identifikasi fenotipik diperoleh tiga genus, yaitu *Enterobacter*, *Klebsiella*, dan *Azospirillum*. Limbah sludge sawit berpotensi sebagai sumber bakteri penambat nitrogen non simbiosis yang dapat dimanfaatkan dalam pengembangan biofertilizer ramah lingkungan.

KataKunci: Bakteripenambatnitrogennonsimbiosis,limbahsludgesawit, *Most Probable Number* (MPN), kepadatan bakteri, penambatan nitrogen.

IsolationandIdentificationofNon-SymbioticNitrogen-Fixing Bacteria from Palm Oil SludgeWastein OilPalm Plantations, Manismata District, Ketapang Regency

Abstract

Non-symbiotic nitrogen-fixing bacteria were isolated and identified from palm oil sludge waste collected from an oil palm plantation in Manismata District, Ketapang Regencytodeterminebacterialdensity,nitrogen-fixingpotential,andthebacterialgenera obtained. Isolation was carried out using the Most Probable Number (MPN) method on Nitrogen-Free Bromothymol Blue (Nfb) medium, followed by isolate purification, evaluation of nitrogen-fixing potential based on ammonia concentration using the Sera Ammonium Test Kit, morphological and physiological characterization through biochemical tests, and phenotypic identification based on Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Phenotypic datawere numerically analyzed using theSimple Matching Coefficient and clustered using the Unweighted Pair Group Method with ArithmeticMean(UPGMA)inMVSPsoftware.Theresultsshowedthatthedensityofnon-symbiotic nitrogen-fixing bacteria was3.3 ×10⁵ MPN/mL. A totalof 14 bacterial isolates were successfully obtained, all of which exhibited nitrogen-fixing ability, with 12 isolates producing 5.0 mg/L ammonia and two isolates producing 3.0 mg/L ammonia. Phenotypic identificationclassifiedtheisolatesintothreegenera,namelyEnterobacter,Klebsiella,and Azospirillum.Palmoilsludgewastehasthepotentialtoserveasasourceofnon-symbiotic nitrogen-fixing bacteria that may be utilized for the development of environmentally friendly biofertilizers.

Keyword*:Non-symbioticnitrogen-fixingbacteria,palmoilsludge,MostProbable Number (MPN), bacterial density, nitrogen fixation.*

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat, taufik, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul "Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penambat Nitrogen Non Simbiosis pada Limbah *Sludge* Sawit di PerkebunanSawit Kecamatan Manismata Kabupaten Ketapang"

Prosespenyusunanskripsiinitidaklepasdaridoa,bantuandandukungandariorang tua tercinta (Riza Firdianto, A.Md.Kep dan Evi Norsita, S.Kep., M.K.M), sert adik-adik (Virsya Medina Rizvie dan Valeya Rizvie Levana) yang telah memberikan motivasi dan semangat. Terimakasih penulis ucapkan kepada Prof. Dr. Dra. Siti Khotimah, S.Si., M.Si. dan Rahmawati, S.Si., M.Sc. selaku dosen pembimbing yang telah memberikan pengetahuan, bimbingan, kritik dan saran selama penulisan skripsi berlangsung. Penulis juga menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Gusrizal, S.Si, M.Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura.
2. Dr. Dwi Gusmalawati, S.Si., M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Metematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura.
3. Dr. Siti Ifadatin, S.Si., M.Si. selaku sekretaris Jurusan Biologi Fakultas Metematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura.
4. Dr. Zulfa Zakiah, S.Si., M.Si. selaku dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan dan arahan selama perkuliahan.
5. Rikhsan Kurniatuhadi, S.Si., M.Si. dan Mukarlina, S.Si., M.Si. selaku dosen penguji yang memberikan saran dan masukannya untuk skripsi ini.
6. DosendanStafJurusanBiologiFakultasMetematikadanIlmuPengetahuanAlam Universitas Tanjungpura.
7. Margie Surahman, S.Si., Emma Khairiyah, S.Si., dan Sri Rahayu, S.Si. selaku laboran dan tenaga administrasi Jurusan Biologi.
8. Teman-teman yang telah membantu selama perkuliahan hingga penyusunan skripsiiniselesai dan menyemangatisatu samalain semasakuliah yaitu angkatan 2022 Biosvara dan pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.
9. Kepada ketujuh anggota grupENHYPEN yang selalu menghibur serta menemani lewat karya-karyanya yang memberikan semangat dan inspirasi kepada penulis selama menjalani perkuliahan hingga menyelesaikan skripsi

Penulis juga ingin mengucapkan terima kasih kepada diri sendiri karena telah memilih untuk terus berusaha dan tidak menyerah hingga akhirnya skripsi ini dapat diselesaikan. Penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca.

Pontianak,31juli2026
Penulis

VanyaRizvieAulia

DAFTARISI

DAFTARTABEL viii
DAFTARGAMBAR..... viii
DAFTARLAMPIRAN viii
BABIPENDAHULUAN 1
1.1 LatarBelakang..... 1
1.2 RumusanMasalah..... 3
1.3 TujuanPenelitian 3
1.4 ManfaatPenelitian 3
BABIITINJAUANPUSTAKA 4
2.1 Limbah*Sludge*..... 4
2.2 BahanOrganikTanah..... 5
2.3 BakteriPenambatNitrogenNonSimbiosis..... 5
2.4 Faktoryang Mempengaruhi Pertumbuhan bakteri Penambat Nitrogen NonSimbiosis..... 6
2.5 MekanismePenambatanNitrogenNonSimbiosis 7
2.6 KarakterBakteriPenambatNitrogenNonSimbiosis..... 8
BABIIIMETODEPENELITIAN 9
3.1 WaktudanTempatPenelitian 9
3.2 AlatdanBahan 9
3.3 ProsedurPenelitian..... 9
3.3.1 Pengambilan Sampel 11
3.3.2 SterilisasiAlatdan Bahan 11
3.3.3 PembuatanMedia Nfb..... 11
3.3.4 IsolasiBakteriPenambatNitrogenNonSimbiosis 12
3.3.5 PerhitunganKepadatan Bakteri Penambat Nitrogen Menggunakan MPN (*Most Probable Number*) 12
3.3.6 PemurnianIsolatBakterPenambatanNitrogenNonSimbiosis..... 12
3.3.7 UjiPotensiBakteriPenambatNitrogenNonSimbiosis..... 13
3.3.8 KarakrterisasiBakteriPenambatNitrogenNonSimbiosis 13
3.3.8.1 KarakterisasiMorfologi..... 13
3.3.8.2 KarakterisasiFisiologi(UjiBiokimia) 14
3.3.9 IdentifikasiBakteriPenambatNitrogenNonSimbiosis 17
3.4 AnalisisData..... 17
BABIVHASILDANPEMBAHASAN 16
4.1 Hasil..... 18
4.2 Pembahasan 26
BABVSIMPULANDAN SARAN 31
5.1 Simpulan..... 33
5.2 Saran 33

DAFTARTABEL

Halaman

Tabel3.3.8.1KategoriKarakteristikIsolatBkteriPenambatNitrogen..... 16
Tabel4.1 Kepadatan Isolat Bakteri Penambat Nitrogen Non Simbiosis yang diisolasidariLimbah*Sludge*Kelapa Sawit..... 18
Tabel4.2 PotensiBakteriPenambatNitrogenNonSimbiosisyangdiisolasidari *Sludge*Kelapa Sawit..... 19
Tabel4.3 Karakteristik Makroskopis, Mikroskopis dan Biokimia Bakteri Penambat Nitrogen Non Simbiosis pada Limbah *Sludge* Sawit 23

DAFTARGAMBAR

Halaman

Gambar 2.1 Dokumentasi limbah *Sludge* yang diaplikasikan ke lahan perkebunan Sawit.....11
Gambar4.1Hasilisolasibakteripenambatnitrogennonsimbiosisdarilimbah *Sludge*kelapasawit 19
Gambar4.2Hasil uji potensi bakteri penambat nitrogen non simbiosis dari limbah *sludge*kelapasawitdenganmenggunakan*SeraAmmoniumTestKit*..... 20
Gambar4.3Morfologi koloniisolatbakteripenambat nitrogen 20
Gambar4.4Morfologi selmikroskopisisolat bakteri penambat nitrogen 22

DAFTARLAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1.DiagramAlirPenelitian..... 37
Lampiran2.Lokasipengambilansampellimbah*ludge* kelapasawit.....38
Lampiran3.Prosespenelitianbakteripenambatnitrogennonsimbiosis 49
Lampiran4.Isolatbakteri penambatnitrogenpadamedia mediaNfbsemi solid 41
Lampiran5.IsolatbakteripenambatnitrogenpadamediamediaNfbsolid..... 42
Lampiran6. PewarnaanGram 43
Lampiran7. UjiBiokimia..... 44
Lampiran8.Tabelkepadatanisolat bakteripenambatnitrogennonsimbiosis.....46
Lampiran9.Dendogram hubungan kekerabatan antar bakteri penambat nitrogen nonsimbiosisberdasarkanindekssimilaritasSSM(*SimpleMatching Coefficient*..... 47

BAB I
PENDAHULUAN

I.1 LatarBelakang

Limbahmerupakanhasilsampingdariberbagaiaktivitasindustriyangterus meningkat seiring dengan perkembangan sektor produksi. Industri kelapa sawit menjadi salah satu sektor yang menghasilkan limbah dalam jumlah besar di Indonesia. Limbah yang dihasilkan berupa limbah padat dan cair yang masih mengandung bahan organik serta senyawa mineral yang berpotensi untuk dimanfaatkan kembali. Pengelolaan limbah yang tepat diperlukan untuk mencegah dampak negatif terhadap lingkungan sekaligus meningkatkan nilai guna limbah tersebut. Limbah dengan kandungan nutrien tertentu berpotensi dimanfaatkan sebagai media tumbuh mikroorganisme yang memiliki peran penting dalam bidang pertanian dan lingkungan (Ariyanti *et al*., 2019).

Limbah *sludge* sawit merupakan salah satu jenis limbah padat hasil pengolahan minyak kelapa sawit yang mengandung bahan organik tanah (BOT) serta unsur nitrogen. Komponen kompleks pada BOT ini kaya akan unsur hara esensialsepertikarbon(C-organik),nitrogen(N),fosfor(P),sulfur(S),sertaunsur mikro lainnya. Pengelolaan limbah yang kurang baik berpotensi menyebabkan material tersebut terurai menjadi amonia yang dapat meningkatkan kadar *Biological Oxygen Demand* (BOD) dan *Chemical Oxygen Demand* (COD) (Fitriani & Subagyo, 2017). Kandungan bahan organik dan mineral yang melimpah pada limbah ini sebenarnya sangat potensial untuk dimanfaatkan sebagai substrat atau media pertumbuhan mikroorganisme, termasuk bakteri penambat nitrogen. Seiring dengan meningkatnya produksi kelapa sawit di Indonesia yang membuat volume limbah semakin besar, diperlukan pengelolaan yaitusalahsatunyamelaluiisolasidanidentifikasibakteripenambatnitrogenyang mampu mengubah N_2bebas di udaramenjadi bentuk yang dapat dimanfaatkan oleh tanaman, seperti amonia (Kusmindari *et al*., 2021).

Bakteri penambat nitrogen non simbiosis merupakan kelompok mikroorganismeyangmampumemfiksasinitrogenatmosfer(N_2)menjadiamonia (NH_3)melaluiaktivitasenzimnitrogenasetanpamembentukhubungansimbiosis dengan tanaman inang. Kelompok bakteri ini hidup bebas pada berbagai habitat,

seperti tanah, rizosfer, perairan, maupun substrat organik yang kaya bahan organik.Aktivitasfiksasinitrogendipengaruhiolehkondisilingkungan,terutama ketersediaansumberkarbon,kadaroksigen,pH,dansuhuyangmendukungkerja enzim nitrogenase. Oleh karena itu, habitat yang memiliki kandungan bahan organik tinggi, seperti limbah sludge kelapa sawit, berpotensi menjadi sumber berbagai bakteri penambat nitrogen non simbiosis yang dapat diisolasi dan diidentifikasi (Dewi & Trimulyono, 2024).

Potensiyangdimilikibakteripenambatnitrogeninipentinguntukdikajidan menjadilangkahdalammengembangkansolusiuntukmeningkatkanketersediaan nitrogenditanah.Nitrogenmerupakanunsurharamakroyangsangatpentingbagi pertumbuhan tanaman, sehingga keberadaan mikroorganisme yang mampu memfiksasi nitrogen bebas menjadi bentuk yang tersedia bagi tanaman sangat dibutuhkan. Penggunaan bakteri ini menjadi suatu alternatif untuk mengurangi pengunaan pupuk sintetik yang apabila digunakan dapat merusak kualitas tanah dan dapat menimbulkan dampak buruk terhadap lingkungan (Asrul & Aryantha, 2021).

Potensi sludge sawit sebagai sumber bakteri penambat nitrogen telah dibuktikan melalui beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya. Penelitian oleh Mustamu (2021) mengisolasi bakteri penambat nitrogen dari *sludge biogass* limbah cair kelapa sawit dan memperoleh isolat dengan aktivitas nitrogenase tinggi yang mampu meningkatkan kandungan nitrogen tanah setelah diaplikasikan. Hasiltersebut didukung oleh penelitian Hidayat *et al*, (2023) yang menemukan bakteri yang dapat memacu pertumbuhan tanaman pada rhizosfer kelapa sawit, beberapa strain memiliki kemampuan menambat nitrogen dan berpotensi digunakan sebagai biofertilizer. Kedua penelitian tersebut menunjukkan bahwa limbah sawit termasuk *sludge*, merupakan sumber mikroorganisme penambat nitrogen yang berpotensi dimanfaatkan dalam upaya pengelolaan lingkungan dan peningkatan ketersediaan nitrogen di tanah.

I.2 RumusanMasalah

Rumusanmasalah yangdapatdiambil berdasarkanlatar belakangyaitu:

1. Berapa kepadatan bakteri penambat nitrogen yang terdapat pada limbah *sluge* sawit di Perkebunan Sawit Kecamatan Manismata Kabupaten Ketapang?
2. Bagaimanapotensibakteripenambatnitrogenhasilisolasidarilimbah *sluge* sawit?
3. Genus bakteri penambat nitrogen apa saja yang berhasil diisolasi pada limbah *sluge* sawit di Perkebunan Sawit Kecamatan Manismata Kabupaten Ketapang?

I.3 TujuanPenelitian

Tujuandilakukannyapenelitianiniyaitu:

1. Mengetahui kepadatan bakteri penambat nitrogen yang terdapat pada limbah *sluge* sawit di Perkebunan Sawit Kecamatan Manismata Kabupaten Ketapang.
2. Mengetahui potensi bakteri penambat nitrogen hasil isolasi dari limbah *sluge* sawit.
3. Mendapatkan genus bakteri penambat nitrogen yang berhasil diisolasidarilimbah*sluge*sawitdidiPerkebunanSawitKecamatan Manismata Kabupaten Ketapang.

I.4 ManfaatPenelitian

Manfaat dari penelitian ini yaitu diharapkan dapat memberikan kontribusi dalammemperluas pemahamanmengenaipotensi bakteripenambatnitrogen,yang dapatdimanfaatkansebagaidasardalampengelolaannitrogensecaraalami.Isolasi bakteripenambatnitrogendarilimbah*sludge*sawitjugaberpotensimenjadidasar dalam pengembangan biofertilizer ramah lingkungan berbasis limbah industri sawit, sehingga dapat memberikan acuan bagi pemanfaatan limbah secara berkelanjutan.