

**POTENSI BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* DALAM MENDEGRADASI
LIGNIN DAN MENDEKOLORISASI LIMBAH *PALM OIL MILL*
EFFLUENT (POME)**

SKRIPSI

**OLEH
AIDAH ALYA MUFIDAH
NIM. 220602110055**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2026**

**POTENSI BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* DALAM MENDEGRADASI
LIGNIN DAN MENDEKOLORISASI LIMBAH *PALM OIL MILL*
EFFLUENT (POME)**

SKRIPSI

**OLEH
AIDAH ALYA MUFIDAH
NIM. 220602110055**

**diajukan kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si.)**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2026**

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : Aidah Alya Mufidah
NIM : 220602110055
Program Studi : Biologi
Judul Penelitian : POTENSI BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa*
DALAM MENDEGRADASI LIGNIN DAN
MENDEKOLORISASI LIMBAH *PALM OIL MILL*
EFFLUENT (POME)

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan penguji pada tanggal 9 Juni 2026 dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana pada program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Prof. Ulfah Utami, M.Si
NIP. 19650509 199903 2 002

()

Pembimbing II : Prof. Munirul Abidin, M.Ag
NIP. 19720420200212 1 003

()

Tim Penguji : Ir. Liliek Hariane, A.R., M.P
NIP. 19620901 199803 2 001

(Ketua) ()

: Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc
NIP. 19900428 202321 2 037

(Anggota) ()


Ketua Program Studi Biologi

Prof. Dr. Keno Susilowati, M.Si
NIP. 19671113 199402 2 001

HALAMAN PERSEMBAHAN

Assalamu'alaikum Wr. Wb

Puji dan Syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufik, hidayah, dan ridhonya kepada penulis setiap mengawali Langkah dalam penyusunan karya skripsi ini. Skripsi yang berjudul “Potensi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dalam Mendegradasi Lignin dan Mendekolorisasi Limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME)” dapat terselesaikan dengan tepat waktu dan baik. Sholawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW, suri tauladan yang terbaik yang telah membawa umatnya dari zaman kegelapan menuju zaman yang penuh dengan ilmu pengetahuan dan kebaikan.

Skripsi ini saya persembahkan sebagai wujud rasa terimakasih, cinta, dan penghargaan yang tulus kepada semua pihak yang telah hadir, mendukung, dan memberi arti di setiap langkah perjalanan ini. *Bismillahirrahmanirrahim*, dengan kerendahan hati dan penuh rasa Syukur, penulis mempersembahkan skripsi ini kepada:

1. Dua Pilar utama dalam kehidupan saya, cinta pertama saya yaitu Ayah Andri Triyanto dan Perempuan terhebat dalam hidup saya yaitu Ibu Siti Ainatus Sholichah. Terimakasih atas cinta yang tak pernah surut, untai do'a yang terus mengalir di setiap sujud untuk anak perempuanmu ini, serta setiap cucuran keringat dan pengorbanan yang tak akan pernah tergantikan. Keberhasilan kecil ini merupakan buah dari kesabaran, perjuangan, dan didikan yang luar biasa yang Ayah dan Ibu berikan. Persembahan ini mungkin tidak akan pernah cukup untuk membalas semua pengorbanan yang kalian, namun semoga dapat menjadi awal kebanggaan yang akan terus hadir untuk ayah dan Ibu. Terimakasih telah menjadi rumah ternyaman, tempat pulang, dan alasan saya untuk terus berjuang hingga berada pada titik ini.
2. Adik-Adikku tersayang, yaitu M. Zaky Putra Andrian dan M. Wildan Putra Andrian, terimakasih atas do'a, dukungan, dan keceriaan yang selalu kalian hadirkan untuk kakak perempuanmu ini. Semoga keberhasilan kecil ini dapat menjadi contoh dan penyemangat untuk terus meraih cita-cita serta membanggakan ayah dan Ibu.
3. Untuk kedua sosok yang selalu hidup dalam do'a dan rindu saya, kedua kakek tercinta, Alm. Maizun dan Alm. Kateni. Meskipun kini raga kita terpisah oleh dunia yang berbeda, kasih sayang, doa, dan restu yang kakek berikan semasa hidup masih terasa hangat mengiringi setiap Langkah saya hingga berada di titik ini. Tidak ada hari tanpa rindu untuk kalian. Persembahan kecil ini saya tujukan sebagai bentuk cinta dan terimakasih atas segala kenangan, nasihat, dan kasih tulus yang pernah diberikan. Semoga kakek tersenyum Bahagia dari tempat terbaik di sisi-Nya.
4. Untuk kedua nenek tercinta Ibu Supiatun dan Ibu Muntiah, terimakasih atas doa yang tak pernah putus, kasih sayang, serta nasihat yang selalu menguatkan Langkah saya hingga berada di titik ini. Kehadiran dan cinta nenek menjadi salah satu alasan saya untuk terus berjuang. Semoga nenek senantiasa diberikan Kesehatan, kebahagiaan, umur Panjang, dan keberkahan. Persembahan kecil ini saya dedikasikan sebagai bentuk cinta dan rasa terimakasih saya kepada nenek.

5. Dosen pembimbing saya yang terhormat Prof. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si. dan Prof. Dr. H. Munirul Abidin, M.Ag. yang telah memberikan bimbingan dan arahan kepada saya dengan kesabaran yang seluas samudra dari awal penelitian hingga akhir penyusunan skripsi ini. Setiap bimbingan dan nasihat yang diberikan menjadi Pelajaran berharga bagi saya dalam menyelesaikan penelitian ini. Semoga segala kebaikan dan ilmu yang diberikan menjadi amal yang bermanfaat dan bernilai ibadah oleh Allah Swt.
6. Teman seperjuangan saya yaitu Aisatunnadiya Komala Mursyid, terimakasih telah menemani dan kebersamai saya selama proses penelitian, dari pagi hingga malam, membantu pengambilan sampel, serta melewati banyak cerita dan perjuangan Bersama di Prodi. Terimakasih atas dukungan, bantuan, dan kebersamaan yang diberikan hingga saya dapat sampai pada titik ini.
7. Teman-teman Biologi A Angkatan 2022, terimakasih atas kebersamaan, dukungan, dan cerita perjuangan yang telah dilalui Bersama selama masa perkuliahan. Semoga silaturahmi dan kenangan baik ini akan terjaga selalu.
8. Teman-teman satu proyek dalam penelitian skripsi ini yang telah berjuang Bersama untuk memperoleh gelar yang sama.
9. Seseorang yang selalu hadir menemani setiap proses saya yaitu Rifki Fieha. Terimakasih telah menjadi tempat pulang bagi segala Lelah dan keluh kesah penulis, atas dukungan, perhatian, serta nasihat yang selalu menguatkan di setiap keadaan. Terimakasih karena telah kebersamai saya hingga berada di titik ini. Kehadiranmu menjadi salah satu alasan saya mampu bertahan dan terus berjuang. Semoga segala kebaikanmu selalu dibalas dengan kebahagiaan dan hal-hal terbaik dalam hidup.
10. Kucing kesayangan saya, Nopal, si gemoy yang selalu menemani penulis disaat Lelah dan suntuk selama proses penyusunan skripsi ini. Tingkah lucu dan kehadiranmu menjadi penghibur kecil yang membuat hari-hari terasa lebih hangat dan menyenangkan. Terimakasih sudah menjadi teman baik di setiap proses perjuangan ini.
11. Untuk diri saya sendiri. Terimakasih karena telah mampu bertahan, berjuang, dan melewati proses hingga sampai di titik ini. Tidak mudah, namun segala Lelah, air mata, dan perjuangan akhirnya mampu terbayarkan. Semoga langkah kecil ini menjadi awal dari perjalanan Panjang menuju Impian dan masa depan yang lebih baik.

Semoga segala doa, dukungan, dan kebaikan dari semua pihak yang telah hadir dalam perjalanan ini senantiasa mendapat balasan terbaik. Dengan penuh rasa Syukur, karya sederhana ini saya persembahkan untuk orang-orang tersayang yang selalu kebersamai setiap Langkah perjuangan saya.

Wassalamu 'alaikum Wr. Wb

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Aidah Alya Mufidah
NIM : 220602110055
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Potensi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dalam
Mendegradasi Lignin dan Mendekolorisasi Limbah
Palm Oil Mill Effluent (POME)

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali denan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar Pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi akademik maupun hukum atas perbuatan tersebut.

Malang, 26 Juni 2026

Yang membuat Pernyataan,



METERAI
TEMPEL
1000
R
646ANX074082/32

Aidah Alya Mufidah

NIM. 220602110055

HALAMAN MOTTO

“Allah SWT tidak mengatakan hidup ini mudah. Tetapi Allah SWT berjanji bahwa, Sesungguhnya Bersama kesulitan ada kemudahan”

(Q.S Al-Insyirah: 5-6)

“Dan Bersabarlah kamu, Sesungguhnya Janji Allah adalah benar”

(Q.S. Ar-Ruum: 60)

“Bila esok nanti kau sudah lebih baik, jangan lupakan masa-masa sulitmu. Ceritakan Kembali kepada Dunia, caramu mengubah Peluh jadi senyuman”

(Andmesh Kamaleng)

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

**POTENSI BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* DALAM MENDEGRADASI
LIGNIN DAN MENDEKOLORISASI LIMBAH *PALM OIL MILL
EFFLUENT* (POME)**

Aidah Alya Mufidah, Ulfah Utami, Munirul Abidin

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri
Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRAK

Limbah cair industri pengolahan kelapa sawit atau *Palm Oil Mill Effluent*(POME) mengandung bahan organik tinggi, terutama lignin dan senyawa aromatik kompleks, yang menyebabkan warna gelap dan berpotensi mencemari lingkungan apabila tidak dikelola dengan baik. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji kemampuan *Pseudomonas aeruginosa* dalam menurunkan kadar lignin dan mendekolorisasi limbah POME. Penelitian ini dilakukan secara eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan variasi konsentrasi inokulum *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 0%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, dan 30% pada proses degradasi lignin, serta variasi tingkat pengenceran sebesar 0%, 25%, 50%, 75%, dan 100% pada proses dekolorisasi. Analisis kadar lignin dilakukan menggunakan metode klason, sedangkan dekolorisasi warna dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 400 nm. Data degradasi lignin dianalisis menggunakan uji *One-Way* ANOVA, sedangkan dekolorisasi dianalisis menggunakan *Two-Way* ANOVA, keduanya dilanjutkan dengan uji DMRT apabila terdapat pengaruh yang signifikan ($p < 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi inokulum 5% menghasilkan degradasi lignin tertinggi sebesar 14,67% pada hari ke 7, sedangkan dekolorisasi tertinggi sebesar 98,90% diperoleh pada tingkat pengenceran 50% dengan waktu inkubasi 5 hari. Hasil ini menunjukkan bahwa *Pseudomonas aeruginosa indigenus* memiliki potensi yang tinggi sebagai agen bioremediasi yang efektif dan ramah lingkungan untuk pengolahan limbah POME.

Kata kunci: degradasi lignin, dekolorisasi, *Palm Oil Mill Effluent* (POME), *Pseudomonas aeruginosa*

THE POTENTIAL OF *Pseudomonas aeruginosa* TO DEGRADE LIGNIN AND DECOLORIZE *PALM OIL MILL EFFLUENT* (POME)

Aidah Alya Mufidah, Ulfah Utami, Munirul Abidin

Departement of Biology, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University

ABSTRACT

Palm Oil Mill Effluent (POME) contains high levels of organik matter, particularly lignin and complex aromatik compounds, which cause dark coloration and have potential to pollute the environment if not properly managed. This study aims to investigate the ability of *Pseudomonas aeruginosa* to reduce lignin levels and decolorize POME effluent. The study was conducted experimentally using a Completely randomized design (CRD) with variations in *Pseudomonas aeruginosa* inoculum concentrations of 0%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, and 30% for the lignin degradation process, as well as dilution levels of 0%, 25%, 50%, 75%, and 100% for the color decolorization process. Lignin concentrations analysis was performed using the klason method, while color decolorization was analyzed using a UV-VIS spectrophotometer at a wavelength of 400nm. Lignin degradation data were analyzed using a one-way ANOVA; both were followed by a DMRT test if significant effects were found ($p < 0.05$). The results of the study showed that a 5% inoculum concentration produced the highest lignin degradation of 14,67% on day 7, while the highest color decolorization of 98,90% was obtained at a 50% dilution with an incubation time of 5 days. The result indicate that the *indigenous Pseudomonas aeruginosa* has high potential as an effective and environmentally friendly bioremediation agent for POME wastewater treatment.

Keywords: *lignin degradation, decolorization, Palm Oil Mill Effluent (POME), Pseudomonas aeruginosa*

على تحليل اللجنين وإزالة لون مياه الصرف الناتجة عن *Pseudomonas aeruginosa* قدرة بكتيريا (POME) مصانع زيت النخيل

عيدة عليا مفيدة، أولفا أوتامي، منير العابدين

قسم علم الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية في مالانج

ملخص

«تحتوي النفايات السائلة الناتجة عن صناعة معالجة زيت النخيل، أو ما يُعرف باسم «نفايات مصانع زيت النخيل على نسبة عالية من المواد العضوية، ولا سيما اللجنين والمركبات العطرية المعقدة، مما يسبب لونها (POME) الداكن ويشكل خطراً على البيئة في حال عدم معالجتها بشكل سليم. يهدف هذا البحث إلى دراسة قدرة بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* على خفض مستويات اللجنين وإزالة لون مياه الصرف الناتجة عن معالجة عصير *Pseudomonas aeruginosa* مع تباين في تركيز (RAL) أجريت هذه الدراسة بشكل تجريبي باستخدام تصميم عشوائي كامل (POME). النتائج، بنسبة 0٪، 5٪، 10٪، 15٪، 20٪، 25٪، و 30٪ في عملية تحليل اللجنين *Pseudomonas aeruginosa* مصل بالإضافة إلى تباين في مستويات التخفيف بنسبة 0 و 25 و 50 و 75 و 100٪ في عملية إزالة اللون. أُجري UV- بينما تم تحليل إزالة اللون باستخدام مقياس الطيف الضوئي، ASON تحليل محتوى اللجنين باستخدام طريقة كل أحادي الاتجاه ANOVA عند طول موجي يبلغ 400 نانومتر م تحليل بيانات تحليل اللجنين باستخدام اختبار . VIS في حالة وجود DMRT ثنائي الاتجاه، وتلا كلاهما اختبار ANOVA بينما تم تحليل إزالة اللون باستخدام اختبار أظهرت نتائج البحث أن تركيز المصلات بنسبة 5 ٪ أدى إلى أعلى معدل لتحلل. (p<0,05) تأثير ذي دلالة إحصائية اللجنين بنسبة 14,67 ٪ في اليوم السابع، في حين تم الحصول على أعلى معدل لإزالة اللون بنسبة 98,90 ٪ عند *Pseudomonas* مستوى تخفيف بنسبة 50 ٪ مع فترة حضانة مدتها 5 أيام. تشير هذه النتائج إلى أن بكتيريا POME المحلية تتمتع بإمكانيات كبيرة كعامل معالجة بيولوجية فعال و صديق للبيئة لمعالجة نفايات *aeruginosa*.

(POME)، الكلمات المفتاحية: تحليل اللجنين، إزالة اللون، مياه الصرف من مصانع زيت النخيل *Pseudomonas aeruginosa*

KATA PENGANTAR

Assalamu 'alaihiikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah menganugrahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal skripsi yang berjudul “Potensi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dalam Mendegradasi Lignin dan Mendekolorisasi Limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME)” Tidak lupa shalawat dan salam disampaikan kepada junjungan Nabi besar Muhammad SAW. yang telah menegakkan agama Islam yang terpatri hingga akhir zaman. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada seluruh pihak yang membantu menyelesaikan skripsi ini, terkhusus kepada:

1. Prof. Dr. Hj. Ilfi Nurdiana, M.Si., CHARM, CRMP selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Agus Mulyono, M.Kes selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si selaku Ketua Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Prof. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si. selaku dosen wali dan pembimbing skripsi yang telah banyak meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan bimbingan dengan penuh kesabaran.
5. Prof Dr. H. Munirul Abidin, M.Ag. selaku dosen pembimbing agama yang telah banyak memberikan bimbingan terkait integrasi sains dan islam.
6. Seluruh dosen dan laboran di Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang setia menemani penulis dalam melakukan penelitian di laboratorium tersebut.
7. Kedua orang tua yang menjadi support sistem baik finansial, penyemangat, dan motivator terbaik.
8. Rekan penelitian Bioremediasi di Laboratorium Mikrobiologi dan seluruh teman-teman biologi angkatan 2022.

Semoga segala kebaikan yang diberikan oleh beberapa pihak tersebut kepada penulis mendapatkan balasan kebaikan dari Allah SWT. Penulis masih melakukan kesalahan dalam penyusunan skripsi ini, Oleh karena itu, penulis meminta maaf atas kesalahan yang dilakukan penulis dan berharap adanya kritik dan saran yang membangun sehingga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan dapat dijadikan referensi demi pengembangan ke arah yang lebih baik. Semoga Allah Swt. senantiasa melimpahkan rahmat dan ridha-Nya kepada kita semua. Aamiin.

Wassalamu 'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Malang, 5 Juni 2026

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	Error! Bookmark not defined.
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	Error! Bookmark not defined.
HALAMAN MOTTO	vi
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
ملخص.....	x
KATA PENGANTAR.....	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	14
1.3 Tujuan Penelitian	15
1.4 Manfaat Penelitian	15
1.5 Batasan Masalah	15
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	17
2.1 Pemanfaatan Bakteri dalam Perspektif Al-Qur'an	17
2.2 Limbah <i>Palm Oil Mill Effluent</i> (POME)	21
2.3 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Error! Bookmark not defined.
2.4 Mekanisme Degradasi Lignin oleh Mikroorganisme	32
2.5 Mekanisme Dekolorisasi pada Limbah <i>Palm Oil Mill Effluent</i> (POME) oleh Mikroorganisme.....	37
2.6 Bakteri Lignolitik.....	41
2.7 Analisis Kadar Lignin menggunakan Metode Klason.....	45
2.8 Analisis Dekolorisasi Limbah Menggunakan Spektrofotometer UV-VIS.....	46
BAB III METODE PENELITIAN	49
3.1 Rancangan Penelitian.....	49
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	50
3.3 Alat dan Bahan	51
3.3.1 Alat	51
3.3.2 Bahan	51

3.4 Prosedur Penelitian	52
3.4.1 Sterilisasi alat dan bahan	52
3.4.2 Pengambilan sampel	52
3.4.3 Pembuatan media	53
3.4.4 Peremajaan isolat bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	54
3.4.5 Proses degradasi lignin	54
3.4.6 Proses dekolorisasi limbah	58
3.5 Analisis data.....	60
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	62
4.1 Degradasi Lignin pada Limbah <i>Palm Oil Mill Effluent</i> (POME) oleh Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	62
4.2 Dekolorisasi Limbah <i>Palm Oil Mill Effluent</i> (POME) oleh Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	70
4.3 Tinjauan Hasil Penelitian Dalam Perspektif Al-Qur'an	84
BAB V PENUTUP	90
5.1 Kesimpulan.....	90
5.2 Saran	91
DAFTAR PUSTAKA.....	93

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Baku Mutu Air Limbah Industri Minyak Sawit	25
Tabel 2.2 Karakteristik kandungan senyawa organik pada limbah POME.....	37
Tabel 2.3 Beberapa jenis bakteri ligninolitik	45
Tabel 3.1 Variasi konsentrasi inokulum terhadap penurunan kadar lignin	49
Tabel 3.2 Variasi tingkat pengenceran terhadap dekolorisasi	49
Tabel 3.3 Komposisi reaktor uji degradasi lignin per Konsentrasi Inokulum (Total volume 100 ml).....	55
Tabel 3.4 Komposisi reaktor uji dekolorisasi per Tingkat pengenceran (Total volume 50 ml, inokulum 5%)	59

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Gambaran umum tentang industri minyak sawit di Indonesia	22
Gambar 2.2	Pengolahan industri kelapa sawit hingga menjadi limbah.....	22
Gambar 2.3	<i>Limbah Palm Oil Mill Effluent (POME)</i>	23
Gambar 2.4	Limbah padat hasil pengolahan kelapa sawit	24
Gambar 2.5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	29
Gambar 2.6	Struktur ultra tumbuhan yang menunjukkan posisi lignin, selulosa, hemiselulosa, dan pektin	33
Gambar 2.7	Struktur dasar lignin pada biomassa <i>lignoselulosa</i> dan tiga unit penyusunnya: <i>p-hydroxyphenyl</i> (biru), <i>guaiacyl</i> (hijau), dan <i>syringyl</i> (merah)	34
Gambar 2.8	Jalur degradasi lignin oleh mikroorganisme	35
Gambar 2.9	Diagram hubungan tentang sumber, jenis degradasi, dan aplikasi lignin.....	36
Gambar 2.11	Prinsip kerja spektrofotometri UV-VIS.....	48
Gambar 4.1	Kurva pertumbuhan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pada media LMSM cair berdasarkan nilai absorbansi OD ₆₀₀ selama 24 jam inkubasi..	72
Gambar 4.2	Perubahan warna limbah POME pada tingkat pengenceran 50% selama proses dekolorisasi oleh <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . (A) Hari ke-0, (B) Hari ke-3, (C) Hari ke-4, (D) Hari ke-5	80

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Kadar Lignin sebelum perlakuan	103
Lampiran 2. Data Kadar Lignin setelah perlakuan pada setiap Konsentrasi Inokulum Hari ke-7	104
Lampiran 3. Perhitungan rata-rata % kadar lignin tersisa Hari ke-7.....	105
Lampiran 4. Persentase Degradasi Lignin pada setiap konsentrasi inokulum Hari ke-7	106
Lampiran 5. Hasil Uji <i>One-Way</i> ANOVA Degradasi Lignin	107
Lampiran 6. Data Absorbansi (OD ₆₀₀) untuk menentukan fase eksponensial dengan membuat Kurva pertumbuhan bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	109
Lampiran 7. Data hasil pengukuran absorbansi (OD ₄₀₀) Dekolorisasi Limbah POME pada berbagai tingkat pengenceran	110
Lampiran 8. Data perhitungan % Dekolorisasi limbah POME	111
Lampiran 9. Hasil uji <i>Two-Way</i> ANOVA Dekolorisasi limbah POME	112
Lampiran 10. Dokumentasi penelitian	115
Lampiran 11. Bukti Konsultasi Pembimbing Biologi dan Agama.....	120
Lampiran 12. Bukti Cek Plagiarisme	121

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara penghasil minyak kelapa sawit terbesar di dunia yang memiliki peranan strategis dalam perekonomian nasional, baik dari aspek ekonomi, sosial, maupun energi (Mardani, 2025). Luas areal Perkebunan kelapa sawit di Indonesia mencapai 15,93 juta hektar dan total produksinya mencapai 47,08 juta ton pada tahun 2023 berdasarkan data *Badan Pusat Statistik* (BPS, 2024). Kelapa sawit memiliki nilai ekonomi tinggi karena dapat diolah menjadi berbagai produk seperti minyak nabati, bahan baku industri (sabun dan deterjen), serta sumber energi alternatif dalam bentuk biofuel dan biodiesel. Pengolahan buah kelapa sawit menghasilkan dua produk utama yang bernilai ekonomi tinggi, yaitu *Crude Palm Oil* (CPO) yang berasal dari bagian daging buah serta *Kernel Palm Oil* (KPO) yang diperoleh dari inti biji kelapa sawit (BPS, 2024).

Peningkatan permintaan dunia terhadap minyak sawit dan produk turunannya telah mendorong pertumbuhan industri kelapa sawit secara berkelanjutan dalam beberapa decade terakhir. Namun, dibalik kontribusinya yang besar terhadap perekonomian, industri ini juga menghadapi berbagai tantangan, terutama terkait dampak terhadap lingkungan akibat aktivitas produksi yang intensif (Susila, 2025). Peningkatan produksi minyak kelapa sawit berakibat pada meningkatnya volume limbah yang dihasilkan dari proses pengolahan. Limbah tersebut berpotensi menimbulkan pencemaran lingkungan, baik pada tanah, perairan, maupun udara, apabila tidak dikelola secara optimal. Hal ini berkaitan dengan karakteristik limbah kelapa sawit yang mengandung senyawa organik dan anorganik dengan tingkat

kompleksitas tinggi, seperti lignin, selulosa, dan hemiselulosa (Sumarlin *et al.*, 2019).

Penelitian yang dilakukan oleh Elvitriana *et al.* (2021) menunjukkan bahwa limbah *Palm Oil Mill Effluent*(POME) yang berasal dari kolam pendingin instalasi pengolahan air limbah PT. Fajar Baizuri & Brothers di Kabupaten Nagan Raya, Provinsi Aceh, memiliki kandungan zat organik yang sangat tinggi, dengan nilai *Biochemical Oxygen Demand* (BOD) berkisar antara 18.000–48.000 mg/L, *Chemical Oxygen Demand* (COD) antara 45.000–65.000 mg/L, serta kandungan nitrogen total sebesar 500–800 mg/L. Peraturan Menteri Lingkungan Hidup Nomor 5 Tahun 2014 menetapkan standar baku mutu air limbah industri yang harus dipenuhi sebelum limbah dibuang ke lingkungan. *Batas* maksimum yang diperkenankan meliputi nilai BOD sebesar 100 mg/L, COD sebesar 350 mg/L, serta TSS sebesar 250 mg/L.

Kondisi tingginya kandungan pencemar pada limbah *Palm Oil Mill Effluent*(POME) tersebut juga menjadi perhatian pada lokasi pengambilan sampel penelitian ini, yaitu PT X yang berlokasi di Dusun Kembangarum, Desa Kembangan, Kecamatan Sutojayan, Kabupaten Blitar. Pabrik ini beroperasi sebagai unit pengolahan kelapa sawit yang mengolah hasil panen masyarakat di wilayah Blitar Selatan dan sekitarnya, menghasilkan limbah POME dari tahapan perebusan, kondensasi, serta pengepresan tandan buah. Pernyataan tersebut sejalan dengan Dewi & Lamona (2025) yang menyatakan bahwa limbah POME merupakan limbah cair yang dihasilkan dari tahapan perebusan dan pengepresan tandan buah segar (TBS) pada industri kelapa sawit. Sebelum diolah lebih lanjut, limbah ini biasanya ditampung pada kolam penampungan sementara (kolam 2). Secara fisik, limbah

POME memiliki warna coklat yang khas, menimbulkan aroma atau bau yang khas, serta kandungan bahan organik dan padatan tersuspensi yang relatif tinggi.

Limbah POME merupakan limbah cair dengan dominansi kandungan air sekitar 95-96% serta sejumlah minyak (0,6-0,7%), dan padatan tersuspensi (2-4%). Keberadaan senyawa seperti lignin, tanin, senyawa fenolik dan komponen organik kompleks lainnya menyebabkan limbah ini berwarna coklat pekat dengan relatif sulit mengalami degradasi secara alami. Pembuangan limbah secara langsung tanpa adanya pengolahan dapat menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan. Pembuangan langsung ke tanah dapat menyebabkan penyumbatan pori-pori tanah, genangan air, dan kematian vegetasi, sedangkan pembuangan ke perairan dapat menurunkan kualitas air, mencemari ekosistem akuatik, dan menimbulkan bau yang tidak sedap karena proses degradasi parsial dari senyawa volatil yang terkandung didalamnya (Mohammad *et al.*, 2021). Hal ini sejalan dengan hasil pengukuran awal pada penelitian ini yang menunjukkan bahwa limbah POME mengandung lignin sebesar 80,49% dari total padatan kering. Uji pendahuluan tersebut mengindikasikan tingginya kandungan bahan organik dalam limbah. Indikasi ini didukung oleh karakteristik limbah yang berwarna gelap serat kental, yang secara umum berkaitan dengan tingginya nilai *Biological Oxygen Demand* (BOD) dan *Chemical Oxygen Demand* (COD) sebagaimana yang dilaporkan dalam berbagai penelitian.

Warna gelap pada limbah POME berasal dari keberadaan senyawa organik kompleks, khususnya pada lignin dan turunannya. Kandungan lignin tersebut berkontribusi terhadap tingginya beban organik serta intensitas warna limbah, sehingga limbah POME berpotensi menimbulkan pencemaran lingkungan apabila

tidak dikelola secara memadai. Kandungan lignin yang tinggi dalam limbah POME menyebabkan potensi bahaya yang lebih besar dibandingkan limbah dengan kandungan selulosa tinggi. Hal ini disebabkan oleh sifat lignin yang recalcitrant (sulit terdegradasi secara alami) karena memiliki struktur kompleks, ikatan kimia yang kuat, serta berat molekul tinggi (Grgas *et al.*, 2023). Berbeda dengan selulosa yang mudah diuraikan oleh enzim selulase, lignin memerlukan enzim oksidatif khusus yang hanya dihasilkan oleh mikroorganisme tertentu.

Selain itu, lignin dan turunannya seperti fenolik, tanin, dan melanoidin menyebabkan warna gelap pada limbah yang dapat menghambat penetrasi cahaya dan mengganggu fotosintesis organisme akuatik (Neoh *et al.*, 2014). Produk dekomposisi lignin juga bersifat toksik dan dapat menghambat pertumbuhan organisme perairan. Di sisi lain, hasil hidrolisis selulosa relatif tidak toksik dan dapat dimanfaatkan sebagai sumber karbon. Tingginya kadar lignin juga berkontribusi terhadap peningkatan nilai COD dan BOD, yang berdampak pada penurunan oksigen terlarut (DO) dan mengancam kehidupan biota akuatik. Dengan demikian, limbah berkadar lignin tinggi memiliki tingkat toksisitas dan resistensi degradasi yang lebih besar dibandingkan limbah berbasis selulosa.

Kondisi tersebut menunjukkan bahwa pengelolaan limbah yang tidak memperhatikan aspek lingkungan dapat menimbulkan kerusakan ekosistem. Prinsip ini sejalan dengan firman Allah Swt. dalam Al-Qur'an Surah Al-A'raf ayat 56, sebagai berikut:

وَلَا تُفْسِدُوا فِي الْأَرْضِ بَعْدَ إِصْلَاحِهَا وَادْعُوهُ خَوْفًا وَطَمَعًا إِنَّ رَحْمَتَ اللَّهِ قَرِيبٌ مِّنَ الْمُحْسِنِينَ

Artinya: “Dan Janganlah kamu berbuat kerusakan di muka bumi, sesudah (Allah) memperbaikinya dan Berdoalah kepada-Nya dengan rasa tajut (tidak akan diterima) dan harapan (akan dikabulkan). Sesungguhnya Rahmat Allah amat dekat kepada orang-orang yang berbuat baik.” (Q.S Al-A’raf: 56).

Menurut Shihab (2002) ayat ini menegaskan larangan berbuat kerusakan di bumi setelah Allah menjadikannya dalam keadaan baik. Hal ini dipandang Kerusakan sebagai bentuk pelampauan batas yang bertentangan dengan tujuan penciptaan alam. Allah memerintahkan manusia untuk menjaga dan memperbaiki bumi, bukan merusaknya. Merusak bumi setelah adanya perbaikan justru lebih buruk daripada merusak pada saat keadaan masih kacau. Oleh karena itu, manusia diperintahkan untuk berdo’a dan beribadah dengan rasa takut sekaligus penuh harap agar terdorong untuk menaati Allah.

Salah satu pendekatan pengolahan yang dapat diterapkan untuk mengatasi permasalahan tersebut adalah melalui proses degradasi lignin dan dekolourisasi pada limbah POME. Kedua proses ini saling berkaitan karena lignin dan senyawa aromatik lainnya merupakan penyebab utama warna gelap pada limbah tersebut. Degradasi lignin bertujuan untuk memecah struktur polimer aromatik kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana (Grgas *et al.*, 2023), sedangkan proses dekolourisasi berfokus pada penurunan intensitas warna sebagai indikator keberhasilan penguraian senyawa penyebab warna (Prakoso *et al.*, 2022).

Proses degradasi lignin dapat dilakukan melalui pendekatan kimiawi (Ma *et al.*, 2008) maupun termal/fisika (Brebun & Vasile, 2010), maupun biologis. Pendekatan

secara termal seperti *steam pretreatment*, dilaporkan mampu menurunkan lignin hingga $\pm 58\%$ serta meningkatkan ketercernaan biomassa (Mohammad *et al.*, 2020), namun metode ini membutuhkan energi yang tinggi dan berisiko merusak senyawa organik apabila perlakuan berlebihan (Galbe & Wallberg, 2019). Sementara itu, metode kimia seperti penggunaan alkali (NaOH), oksidator H_2O_2 dan *peracetic acid* efektif dalam menurunkan lignin serta mengurangi warna pada POME. Efektivitasnya bahkan dapat ditingkatkan melalui kombinasi dengan perlakuan ultrasonik (Hermansyah *et al.*, 2019). Metode ini berpotensi menghasilkan limbah sekunder, meningkatkan biaya operasional, serta menimbulkan Risiko mencemari lingkungan (Medina *et al.*, 2015). Kompleksitas struktur lignin tidak beraturan tetap menjadi hambatan utama dalam proses degradasi (Grgas *et al.*, 2023).

Dekolorisasi atau penghilangan warna pada limbah juga dapat dilakukan dengan metode fisika-kimia, seperti adsorpsi, koagulasi–flokulasi, oksidasi lanjutan, serta teknik elektrokimia (Donkadokula *et al.*, 2020). Metode tersebut mampu menurunkan COD, BOD, dan intensitas warna dalam waktu yang relatif singkat (Khan *et al.*, 2025), namun memerlukan bahan kimia dalam jumlah besar serta menghasilkan lumpur reaksi yang berpotensi mencemari lingkungan. Selain itu, metode termokimia seperti pirolisis dan gasifikasi juga efektif, tetapi membutuhkan energi dan biaya operasional yang tinggi (Khan *et al.*, 2025), serta berpotensi menghasilkan senyawa antara yang toksik (Prakoso *et al.*, 2022). Oleh karena itu, diperlukan alternatif pengolahan yang lebih efisien dan ramah lingkungan salah satunya melalui pemanfaatan aktivitas mikroorganisme.

Salah satu metode yang dinilai sebagai alternatif paling ramah lingkungan adalah metode biologis (Yadav *et al.*, 2022). Metode ini lebih efektif dalam proses

degradasi lignin dan dekolorisasi POME karena tidak menimbulkan kehilangan hasil sebagaimana terjadi pada perlakuan termal (Christoper *et al.*, 2014). Dibandingkan dengan pendekatan fisik maupun kimia, pengolahan biologis lebih berorientasi pada pemanfaatan aktivitas mikroorganisme sehingga kebutuhan energi dan potensi terbentuknya residu pencemar dapat ditekan (Prakoso *et al.*, 2022). Efektivitasnya didukung oleh aktivitas enzim ligninolitik dan mikroorganisme pengurai lignin yang bekerja pada kondisi operasi yang lebih ringan serta memerlukan energi yang lebih rendah (Christoper *et al.*, 2014). Aktivitas mikroorganisme terbukti mampu menguraikan struktur polimer lignin sekaligus menurunkan intensitas warna melalui degradasi senyawa aromatik penyebab warna gelap dengan memanfaatkan senyawa organik dalam limbah sebagai sumber energi bagi mikroorganisme, sehingga proses berlangsung secara efisien tanpa menghasilkan limbah tambahan (Turista, 2017).

Proses biodegradasi lignin umumnya memanfaatkan mikroorganisme ligninolitik yang berasal dari golongan fungi maupun bakteri. Fungi white-rot seperti *Phanerochaete chrysosporium* dikenal memiliki kemampuan yang sangat baik dalam mendegradasi lignin karena mampu menghasilkan enzim ligninase ekstraseluler dengan aktivitas tinggi (Kirk & Farrell, 1987). Meskipun demikian, penggunaan fungi dalam pengolahan limbah cair seperti POME masih memiliki beberapa kendala, di antaranya memerlukan kondisi lingkungan yang spesifik, memiliki laju pertumbuhan yang cenderung lambat, sensitif terhadap perubahan kondisi lingkungan, serta membutuhkan suplai oksigen yang tinggi sehingga penerapannya pada skala besar menjadi kurang optimal (Hatakka, 1994). Sebaliknya, bakteri ligninolitik memiliki sejumlah keunggulan, seperti

pertumbuhan yang lebih cepat, toleransi yang lebih tinggi terhadap perubahan kondisi lingkungan, serta kemampuan adaptasi yang baik pada limbah dengan komposisi kompleks. Salah satu bakteri yang berpotensi dimanfaatkan adalah *Pseudomonas aeruginosa*, yang diketahui mampu mendegradasi senyawa aromatik kompleks, termasuk lignin (Grgas *et al.*, 2023). Selain itu, bakteri *indigenous* yang diisolasi langsung dari POME cenderung memiliki kemampuan adaptasi yang lebih baik terhadap kandungan organik kompleks pada limbah tersebut, sehingga berpotensi lebih efektif untuk diaplikasikan dalam proses bioremediasi (Xu *et al.*, 2018). Berdasarkan berbagai keunggulan tersebut, *Pseudomonas aeruginosa indigenous* dipilih sebagai agen bioremediasi dalam penelitian ini untuk mendegradasi lignin serta mendekolorisasi limbah POME. Pernyataan tersebut menunjukkan bahwa Allah Swt. menciptakan berbagai makhluk hidup dari ukuran yang sangat kecil hingga besar, baik yang dapat dilihat secara kasat mata maupun yang hanya dapat diamati melalui bantuan mikroskop. Keberagaman ciptaan tersebut menjadi bukti nyata atas kekuasaan dan kebesaran-Nya. Hal ini sejalan dengan firman Allah Swt. dalam Al-Qur'an surah Al-Baqarah ayat 26 sebagai berikut:

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي ۚ أَن يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا ۚ فَأَمَّا الَّذِينَ آمَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ ۚ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا ۚ يُضِلُّ بِهِ ۚ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ ۚ كَثِيرًا وَمَا يُضِلُّ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ ﴿٢٦﴾

Artinya: “Sesungguhnya Allah tidak segan membuat perumpamaan seekor nyamuk atau yang lebih kecil daripada itu. Adapun orang-orang yang beriman mengetahui bahwa itu kebenaran dari Tuhannya. Akan tetapi, orang-orang kafir berkata, “Apa maksud Allah dengan perumpamaan ini?” Dengan (perumpamaan) itu banyak orang yang disesatkan-Nya. Dengan itu pula banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. Namun, tidak ada yang

Dia sesatkan dengan (perumpamaan) itu, selain orang-orang fasik.”
(Q.S. Al-Baqarah [2]: 26)

Lafadz “فَمَا فَوْقَهَا” dalam tafsir Al-Maraghi (2001) yang memiliki makna

menunjukkan adanya makhluk ciptaan Allah Swt. yang berukuran lebih kecil daripada nyamuk. Penafsiran ini dapat dipahami sebagai gambaran tentang makhluk hidup berukuran mikroskopis yang tidak dapat dilihat secara langsung oleh mata manusia, melainkan memerlukan bantuan alat optik seperti mikroskop untuk mengamatinya, salah satunya adalah bakteri.

Efektivitas metode biologis dalam pengolahan *Palm Oil Mill Effluent*(POME) telah dilaporkan dalam berbagai penelitian terdahulu, khususnya melalui pemanfaatan bakteri ligninolitik yang mampu mendegradasi lignin sebagai salah satu komponen utama penyebab tingginya warna dan beban organik limbah. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan salah satu bakteri ligninolitik yang telah terbukti memiliki kemampuan dalam mendegradasi lignin melalui produksi enzim lignin peroksidase (LiP), lakase, dan *dye-decolorizing peroxidase* (DyP). Kemampuan tersebut dilaporkan oleh Dube *et al.* (2023) yang mengoptimasi kondisi pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* CP031449.2 dalam produksi lignin peroksidase menggunakan substrat kraft lignin melalui metode fermentasi terendam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kondisi optimum degradasi lignin oleh *Pseudomonas aeruginosa* terjadi pada pH 6,5 dan suhu 40°C, dengan puncak produksi enzim dicapai setelah 7 hari inkubasi. Temuan ini mengindikasikan bahwa periode inkubasi selama 7 hari merupakan waktu yang optimal bagi *Pseudomonas aeruginosa* untuk mengekspresikan aktivitas ligninolitik secara maksimal. Selain itu, Usman & Dabai (2021) melaporkan bahwa *Pseudomonas aeruginosa* yang

diisolasi dari Danau Kware mampu mendegradasi lignin dengan produksi lakase optimum pada konsentrasi inokulum 10% (v/v), sehingga meningkatkan aktivitas enzim ligninolitik hingga 11,8 kali lipat. Penelitian lain oleh Yadav *et al.* (2014) juga menunjukkan bahwa *Pseudomonas aeruginosa* DSM 50071 memiliki efisiensi degradasi lignin tertinggi sebesar 64,69% dibandingkan isolat bakteri lainnya melalui aktivitas lakase ekstraseluler, sehingga memperkuat potensinya sebagai kandidat unggul dalam proses delignifikasi secara biologis.

Keberhasilan proses degradasi lignin oleh *Pseudomonas aeruginosa* tidak hanya dipengaruhi oleh lama inkubasi, tetapi juga oleh konsentrasi inokulum yang digunakan. Yeber Ortiz dan Espinoza (2016) melaporkan bahwa *Pseudomonas aeruginosa* CSMY-1 dengan kepadatan sel 10^8 CFU/mL setara dengan 0,5% (v/v), yang merupakan konsentrasi sangat rendah namun tetap mampu menghasilkan degradasi lignin hingga 97% dalam 5 hari disertai penurunan COD sebesar 78,6%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa degradasi lignin dapat berlangsung secara efektif bahkan dalam periode inkubasi kurang dari 7 hari. Dalam medium POME yang mengandung lignin sebagai salah satu komponen utama penyebab warna, Loretta *et al.* (2016) melaporkan bahwa analisis GC-MS pada hari ke-7 inkubasi POME yang diinokulasi *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan perubahan komposisi senyawa organik yang signifikan. Hal tersebut menegaskan bahwa hari ke-7 merupakan titik pengamatan penting dalam proses biodegradasi POME. Pada optimasi konsentrasi inokulum dalam medium POME, Bala *et al.* (2020) mengevaluasi variasi konsentrasi inokulum 5–25% (v/v) pada proses dekolonisasi POME yang mengandung lignin, tanin, dan melanoidin, dengan hasil optimum diperoleh pada konsentrasi 20% (v/v). Sejalan dengan penelitian tersebut,

Soleimaninanadegani dan Manshad (2014) menggunakan *Pseudomonas* sp. *indigenus* POME pada konsentrasi 10% (v/v) dengan waktu inkubasi 7 hari dan memperoleh hasil pengolahan biologis yang signifikan.

Berdasarkan berbagai bukti ilmiah tersebut, khususnya temuan Dube *et al.* (2023) yang menunjukkan bahwa 7 hari merupakan periode optimum produksi enzim ligninolitik oleh *Pseudomonas aeruginosa*, serta penelitian terdahulu yang melaporkan efektivitas konsentrasi inokulum pada rentang 5–25% (v/v) dalam medium berbasis lignin maupun POME, maka penelitian ini menetapkan variasi konsentrasi inokulum *Pseudomonas aeruginosa indigenus* sebesar 0%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, dan 30% (v/v) dengan waktu inkubasi selama 7 hari. Penambahan batas atas hingga 30% dilakukan untuk mengeksplorasi kemungkinan konsentrasi optimum yang lebih spesifik pada medium POME *indigenus*, mengingat kompleksitas kandungan bahan organik, khususnya lignin, dalam POME relatif lebih tinggi dibandingkan substrat lignin murni yang digunakan pada penelitian sebelumnya.

Proses degradasi lignin secara langsung berkaitan dengan proses dekolorisasi sebagai parameter penting lainnya dalam pengolahan POME, mengingat warna gelap pada limbah bersumber dari senyawa aromatik kompleks turunan lignin yang sama. Penelitian yang dilakukan oleh Abdulsalam *et al.* (2021) memberikan hasil bahwa *Klebsiella pneumoniae* ABZ11 yang diperoleh dari Universitas Teknologi Malaysia mampu menurunkan intensitas warna hingga 97,73% dalam waktu 25 jam, sedangkan pada penelitian Putri & Febria (2023) mencatat penurunan warna sebesar 28,98% menggunakan 10% inokulum dalam kurun waktu 20 hari, serta pada penelitian Subowo (2019) yang melaporkan penurunan warna hingga 99,26%

pada kondisi tertentu. Faktor pengenceran turut memengaruhi efektivitas dekolorisasi POME. Peningkatan Tingkat pengenceran umumnya menghasilkan penurunan warna yang lebih efektif, Abdulsalam *et al.* (2021), menunjukkan bahwa pengenceran 25% mampu menurunkan intensitas warna hingga 89,25% dalam 25 jam, sedangkan penelitian Putri & Febria (2023) tanpa pengenceran menunjukkan efektivitas yang lebih rendah, yaitu 28,98% dalam waktu inkubasi 20 hari. Hal ini menunjukkan bahwa pengenceran berperan dalam menurunkan intensitas warna awal sehingga meningkatkan kinerja mikroorganisme dalam proses dekolorisasi, sehingga dalam penelitian ini parameter yang digunakan adalah faktor pengenceran pada proses dekolorisasi limbah POME. Faktor pengenceran yang digunakan pada penelitian ini yaitu 0%, 25%, 50%, 75%, dan 100%.

Penelitian ini menggunakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* karena bakteri ini memiliki kemampuan dalam mendegradasi lignin. Bakteri ini merupakan bakteri *indigenous* yang berasal dari limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME), sehingga memiliki kemampuan adaptasi yang baik terhadap kandungan organik kompleks dalam limbah dan mendukung efektivitas proses biodegradasi. Kemampuan tersebut dibuktikan oleh Yang *et al* (2018), yang melaporkan bahwa *Pseudomonas* sp. Q18 hasil isolasi dari kayu yang membusuk menunjukkan kemampuan degradasi lignin pada berbagai substrat lignoselulosa, termasuk switchgrass, batang jagung, dan jerami gandum. Aktivitas tertinggi ditemukan pada switchgrass dengan persentase degradasi sebesar 25% melalui aktivitas enzim DyP-type peroksidase yang memutus ikatan β -O-4 pada struktur lignin. Selain itu, penelitian Usman & Dabai (2021) melaporkan bahwa *Pseudomonas aeruginosa* yang diisolasi dari Kware Lake mampu mendegradasi lignin hingga 82% pada suhu optimum 35°C,

dengan hasil yang cukup tinggi juga pada waktu inkubasi 48 jam (65%), pH 7 (58%), serta kecepatan agitasi 100 rpm (72%). Menurut Okuwute *et al.* (2020) *Pseudomonas* secara alami berkaitan dengan bahan baku minyak sawit dan degradasi minyak sawit. Hal ini terjadi karena kemampuan bakteri ini untuk memanfaatkan lemak sebagai sumber karbon. Aktivitas degradasi lignin tersebut melibatkan enzim lignolitik seperti lignin peroksidase, mangan peroksidase, dan DyP-type peroksidase yang memecah struktur aromatik lignin menjadi senyawa sederhana yang tidak berwarna, sehingga peningkatan aktivitas degradasi lignin berbanding lurus dengan penurunan intensitas warna (Yadav *et al.*, 2022). Hal ini menegaskan potensi *Pseudomonas aeruginosa* sebagai agen biologis yang efisien dan ramah lingkungan dalam pengolahan POME.

Keberhasilan proses degradasi lignin dan dekolourisasi limbah POME diukur menggunakan dua metode terstandar. Kadar lignin dianalisis menggunakan metode klason, yaitu metode kuantitatif berbasis hidrolisis asam sulfat dua tahap yang menjadi acuan utama penetapan kadar lignin pada biomassa lignoselulosa karena akurasi dan konsistensinya yang tinggi (Galiwango *et al.*, 2018). Pada prinsipnya, fraksi karbohidrat dilarutkan oleh asam sulfat 72%, kemudian sisa lignin yang tidak larut diukur secara gravimetri sebagai *acid-insoluble* lignin (Lamtiar *et al.*, 2015). Dekolourisasi diukur menggunakan spektrofotometer UV-VIS berdasarkan nilai absorbansi pada panjang gelombang tertentu yang sesuai dengan prinsip Hukum *Lambert-Beer*, yang menyatakan bahwa absorbansi berbanding lurus dengan konsentrasi senyawa dalam larutan (Wahyuni *et al.*, 2022). Kedua metode tersebut dipilih karena mampu memberikan data kuantitatif yang komprehensif terhadap dua parameter utama penelitian, yaitu penurunan kadar lignin dan penurunan intensitas

warna limbah POME. Penelitian ini bertujuan untuk menguji kemampuan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dalam menurunkan kadar lignin dan dekolorisasi pada limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME). Pemanfaatan bakteri ini diharapkan dapat menjadi alternatif pengolahan limbah yang ramah lingkungan, serta memberikan wawasan terhadap pentingnya proses degradasi lignin dan dekolorisasi untuk mendukung penerapan konsep bioteknologi hijau di industri kelapa sawit.

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, dapat dirumuskan hipotesis penelitian sebagai berikut. Hipotesis nol (H_0) menyatakan bahwa variasi konsentrasi inokulum *Pseudomonas aeruginosa* tidak berpengaruh terhadap persentase degradasi lignin pada limbah POME, serta tingkat pengenceran, waktu inkubasi, dan interaksi antara keduanya tidak berpengaruh terhadap persentase dekolorisasi limbah POME. Adapun hipotesis alternatif (H_1) menyatakan bahwa variasi konsentrasi inokulum *Pseudomonas aeruginosa* berpengaruh nyata terhadap persentase degradasi lignin pada limbah POME, serta tingkat pengenceran, waktu inkubasi, dan interaksi antara keduanya berpengaruh nyata terhadap persentase dekolorisasi limbah POME.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana potensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dalam menurunkan kadar lignin pada limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME)?
2. Bagaimana potensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dalam mendekolorisasi pada limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk menganalisis potensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dalam menurunkan kadar lignin pada limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME).
2. Untuk menganalisis potensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dalam mendekolorisasi pada limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME).

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Penelitian ini secara teoritis diharapkan dapat memperkaya kajian ilmiah mengenai pemanfaatan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dalam proses bioremediasi limbah cair, khususnya dalam degradasi lignin dan dekolorisasi pada limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME), serta menjadi referensi bagi penelitian sejenis di bidang bioteknologi lingkungan.
2. Hasil dari penelitian ini secara praktis diharapkan dapat memberikan alternatif metode pengolahan limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME) yang ramah lingkungan dan berkelanjutan, serta menjadi acuan dalam menentukan metode pengolahan yang efektif berdasarkan hasil pengujian kadar lignin dan kemampuan bakteri dalam menurunkan warna limbah.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Sampel limbah *Palm Oil Mill Effluent*(POME) yang digunakan berasal dari Industri kelapa sawit mentah yang terletak di Kabupaten Blitar, Jawa Timur
2. Isolat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* diperoleh dari koleksi laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

yang diisolasi dari limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME) dan sudah diuji kemampuannya dalam menghasilkan enzim ligninase.

3. Degradasi lignin limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME) menggunakan konsentrasi inokulum dengan variasi 0%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, dan 30%.
4. Dekolorisasi limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME) menggunakan faktor pengenceran dengan variasi 0%, 25%, 50%, 75%, dan 100%.
5. Penurunan kadar lignin diukur menggunakan metode Klason dan dekolorisasi limbah POME diamati menggunakan alat Spektrofotometri UV-VIS.
6. Penelitian ini hanya berfokus pada pengaruh variasi konsentrasi inokulum *Pseudomonas aeruginosa*, tingkat pengenceran, dan waktu inkubasi terhadap persentase degradasi lignin dan dekolorisasi limbah POME.
7. Faktor suhu dan pH selama proses inkubasi tidak diukur dan tidak dianalisis dalam penelitian ini. Kondisi inkubasi mengacu pada rentang suhu dan pH optimum bagi pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* sebagaimana dilaporkan pada penelitian-penelitian terdahulu, sehingga diasumsikan tidak menjadi faktor pembatas dalam proses degradasi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pemanfaatan Bakteri dalam Perspektif Al-Qur'an

Al-Qur'an sebagai kitab suci berfungsi sebagai sumber utama segala bentuk ilmu pengetahuan, baik yang bersifat agama maupun umum. Di dalamnya dijelaskan bahwa Allah SWT menciptakan berbagai makhluk hidup dengan ukuran dan bentuk yang beragam, mulai dari yang tampak hingga yang tidak terlihat oleh mata manusia. Keanekaragaman tersebut menjadi bukti kebesaran dan kekuasaan Allah SWT. Manusia yang dianugerahi akal seharusnya merenungi ciptaan tersebut agar semakin bertambah keimanan dan ketakwaannya. Salah satu bukti kebesaran Allah ialah adanya makhluk berukuran sangat kecil yang disebut mikroorganisme, yaitu makhluk hidup mikroskopis yang hanya dapat diamati menggunakan alat bantu seperti mikroskop (Hidayati *et al.*, 2023).

Mikroorganisme merupakan makhluk hidup berukuran sangat kecil yang dapat ditemukan hampir di seluruh lingkungan, seperti tanah, air, udara, bahkan di dalam tubuh makhluk hidup. Jenis-jenis mikroorganisme meliputi bakteri, archaea, jamur (fungi), protozoa, dan virus. Keberadaannya memiliki peran penting dalam menjaga keseimbangan ekosistem, antara lain dengan membantu siklus nutrisi, menghasilkan oksigen, memicu perubahan kimiawi, serta menguraikan bahan organik. Selain itu, beberapa mikroorganisme juga berperan dalam menjaga kesehatan manusia, meskipun ada pula yang bersifat patogen dan dapat menimbulkan penyakit. Dengan demikian, mikroorganisme memiliki pengaruh besar terhadap kehidupan dan keberlangsungan makhluk hidup di bumi. Salah satu

kelompok mikroorganisme yang menarik untuk diteliti dan diketahui manfaatnya lebih lanjut adalah bakteri (Agustia *et al.*, 2025).

Bakteri merupakan mikroorganisme uniseluler yang memiliki struktur sel sederhana tanpa membran inti dan berukuran mikroskopis sehingga hanya dapat diamati dengan bantuan mikroskop (Artati & Oman, 2019). Hal yang menarik untuk diperhatikan adalah bahwa keberadaan makhluk hidup berukuran mikroskopis seperti bakteri telah diisyaratkan dalam Al-Qur'an. Allah SWT menerangkan bahwa ciptaan-Nya meliputi berbagai jenis makhluk dengan ukuran yang berbeda-beda, mulai dari yang besar hingga yang sangat kecil, bahkan yang tidak dapat terlihat oleh mata manusia. Sehubungan dengan hal tersebut, Allah swt berfirman dalam Surah Al-Baqarah ayat 26 sebagai berikut:

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا فَأَمَّا الَّذِينَ آمَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا وَمَا يُضِلُّ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ ﴿٢٦﴾

Artinya: “Sesungguhnya Allah tidak segan membuat perumpamaan seekor nyamuk atau yang lebih kecil daripada itu. Adapun orang-orang yang beriman mengetahui bahwa itu kebenaran dari Tuhannya. Akan tetapi, orang-orang kafir berkata, “Apa maksud Allah dengan perumpamaan ini?” Dengan (perumpamaan) itu banyak orang yang disesatkan-Nya. Dengan itu pula banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. Namun, tidak ada yang Dia sesatkan dengan (perumpamaan) itu, selain orang-orang fasik.” (Q.S. Al-Baqarah [2]: 26)

Menurut Tafsir Ibnu Katsir (2008), ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT tidak merasa hina untuk memberikan perumpamaan melalui makhluk yang berukuran kecil, seperti nyamuk, bahkan yang lebih kecil darinya. Hal ini mengandung makna bahwa setiap makhluk, sekecil apa pun ukurannya, memiliki nilai, fungsi, serta hikmah tersendiri dalam penciptaan-Nya. Dalam perspektif ilmu

pengetahuan modern, penjelasan ini dapat dipahami sebagai bentuk pengakuan terhadap keberadaan makhluk mikroskopis, seperti bakteri, yang juga merupakan bagian dari ciptaan Allah SWT dan memiliki potensi besar untuk dikaji serta dimanfaatkan bagi kemaslahatan manusia.

Selain itu, keteraturan dan keseimbangan dalam penciptaan makhluk hidup juga ditegaskan dalam firman Allah SWT yang lain yaitu didalam Surah Al-Qamar ayat 49, Allah SWT berfirman:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿٤٩﴾

Artinya: "Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu sesuai dengan ukuran." (Q.S Al-Qamar [54]: 49).

Menurut Tafsir Al-Misbah (2002), ayat tersebut mengandung makna bahwa setiap ciptaan Allah SWT diciptakan dengan ukuran, perhitungan, serta keseimbangan yang sangat sempurna. Prinsip keteraturan ini juga tampak pada sistem biologis yang dimiliki oleh bakteri, di mana proses metabolisme, pertumbuhan, dan adaptasinya berlangsung secara teratur dan terarah. Fenomena tersebut mencerminkan adanya ketelitian dan kebijaksanaan dalam setiap ciptaan Allah SWT. Bakteri juga dirancang dengan fungsi khusus, antara lain untuk menguraikan bahan organik, menghasilkan senyawa yang berguna, serta berperan dalam menjaga keseimbangan ekosistem melalui mekanisme biokimia yang kompleks.

Meskipun berukuran sangat kecil, bakteri memiliki peranan yang signifikan dalam berbagai proses biologis serta dinamika lingkungan. Keberadaannya mencerminkan kebesaran dan kekuasaan Allah SWT dalam menciptakan makhluk berukuran kecil yang memiliki kontribusi besar terhadap keseimbangan ekosistem

di bumi (Artati & Oman, 2019). Sebagaimana yang disebutkan dalam firman Allah yaitu Al-Qur'an surah Al-Ankabut ayat 44 sebagai berikut:

خَلَقَ اللَّهُ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضَ بِالْحَقِّ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّلْمُؤْمِنِينَ ﴿٤٤﴾

Artinya: *“Allah menciptakan langit dan bumi dengan hak. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Allah) bagi orang-orang mukmin” (Q.S. Al-Ankabut [29]: 44).*

Berdasarkan penjelasan Tafsir Al-Misbah (2002), ayat tersebut menegaskan bahwa Allah SWT menciptakan langit dan bumi dengan penuh hikmah dan kebenaran. Setiap ciptaan Allah memiliki tujuan serta manfaat yang diperuntukkan bagi kemaslahatan seluruh makhluk hidup. Termasuk di dalamnya makhluk berukuran mikroskopis seperti bakteri, yang tidak dapat diamati secara langsung oleh mata manusia, memiliki peranan penting dalam mendukung keseimbangan dan keberlangsungan kehidupan di bumi. Salah satu peran penting bakteri dalam kehidupan adalah kemampuannya bertindak sebagai agen biodegradasi dan bioremediasi. Bakteri memiliki kemampuan untuk mendegradasi berbagai senyawa organik maupun anorganik yang bersifat toksik menjadi senyawa yang lebih sederhana dan tidak berbahaya bagi lingkungan. Aktivitas ini terjadi melalui kerja enzimatik bakteri yang mampu memecah berbagai jenis polutan, seperti limbah industri, senyawa hidrokarbon, dan lignoselulosa, menjadi senyawa yang lebih aman dan ramah lingkungan. Oleh karena itu, pemanfaatan bakteri dalam bioremediasi menjadi salah satu pendekatan berkelanjutan yang berperan penting dalam menjaga keseimbangan ekosistem serta mengurangi tingkat pencemaran lingkungan (Abidin & Rakhmawati, 2023).

2.2 Limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME)

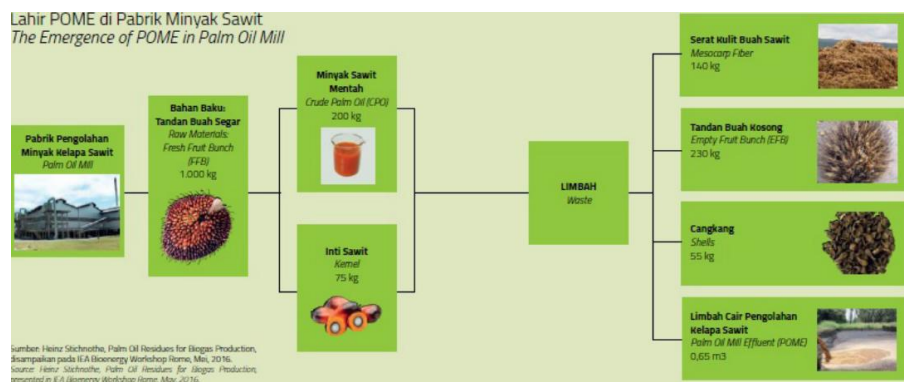
Kelapa sawit merupakan komoditas strategis penghasil minyak nabati yang berperan penting secara global dan menjadi andalan perkebunan Indonesia dalam menyumbang devisa nonmigas. Prospek positif perdagangan minyak nabati dunia mendorong pemerintah terus memperluas pengembangan perkebunan kelapa sawit (Kemenperin, 2020). Industri ini berkembang pesat dengan produksi global melebihi 70 juta ton per tahun. Sejak 2016, Indonesia menjadi pengeksport minyak sawit terbesar dunia dengan volume ekspor 25,5 juta ton pada 2021 dan menyumbang sekitar 57% produksi global pada periode 2023/2024, melampaui Malaysia dan Thailand. Sektor kelapa sawit berkontribusi hampir 5% terhadap PDB nasional, menyerap sekitar tiga juta tenaga kerja, serta menghasilkan berbagai produk utama seperti crude palm oil (CPO), minyak goreng sawit, dan biodiesel (Kacaribu *et al.*, 2025).

Minyak sawit memiliki biaya produksi lebih rendah dibandingkan minyak nabati lain dan diproyeksikan mampu memenuhi permintaan global hingga 240 juta ton pada 2050 (Corley, 2009). Komoditas ini menyumbang sekitar 40% kebutuhan minyak nabati dunia, dengan produktivitas yang terus meningkat dan kontribusi pendapatan diperkirakan mencapai 5,1% pada periode 2022–2030 (GAPKI, 2022). Buah kelapa sawit menghasilkan dua jenis minyak, yaitu CPO dan palm kernel oil (PKO) (Barcelos *et al.*, 2015), yang berperan penting di pasar global dan bersaing dengan minyak kedelai. Minyak sawit dimanfaatkan secara luas dalam industri pangan, produk rumah tangga, kosmetik, hingga biodiesel seiring meningkatnya permintaan global (Pacheco *et al.*, 2017). Posisi strategis Indonesia dalam industri minyak sawit dunia ditunjukkan pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Gambaran umum tentang industri minyak sawit di Indonesia (Kacaribu *et al.*, 2025).

Peningkatan produktivitas industri kelapa sawit yang cukup pesat juga menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan sekitarnya. Salah satu dampak tersebut adalah munculnya limbah dari proses pengolahan kelapa sawit (Pahan, 2007). Ilustrasi pengolahan industri kelapa sawit hingga menjadi limbah disajikan pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Pengolahan industri kelapa sawit hingga menjadi limbah (Marini *et al.*, 2022)

Limbah kelapa sawit merupakan sisa hasil dari tanaman kelapa sawit yang tidak termasuk dalam produk utama maupun hasil ikutan produksi. Secara umum, limbah ini terbagi menjadi dua jenis, yaitu limbah cair yang dikenal sebagai *Palm Oil Mill Effluent* (POME) dan limbah padat yang meliputi sabut, cangkang, janjangan kosong (JKK), serta padatan basah (*wet decanter solid*) (Pahan, 2007). Di

antara berbagai jenis limbah tersebut, limbah cair pabrik kelapa sawit atau POME menjadi perhatian utama karena volumenya yang besar dan kandungan bahan organiknya yang tinggi, sehingga berpotensi mencemari lingkungan apabila tidak dikelola dengan baik. Gambar Ilustrasi mengenai limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME) disajikan pada Gambar 2.3, sedangkan limbah padat hasil pengolahan kelapa sawit ditunjukkan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.3 Limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME)
(Dokumentasi Pribadi)

Berdasarkan Gambar 2.3, POME tampak sebagai limbah cair berwarna coklat keruh dengan konsistensi kental akibat tingginya kandungan bahan organik terlarut maupun tersuspensi. Limbah cair pabrik kelapa sawit (LCPKS) atau *Palm Oil Mill Effluent* (POME) merupakan limbah organik hasil samping agroindustri kelapa sawit yang berasal dari proses pengolahan tandan buah segar menjadi *crude palm oil* (CPO), dengan komposisi utama berupa air, minyak, dan padatan organik (Raja *et al.*, 2021). POME memiliki komposisi utama berupa air sebesar 95–96%, minyak dan lemak residual sebesar 0,6–0,7%, serta padatan organik sebesar 4–5% dari total komposisinya (Mohammad *et al.*, 2021). Padatan organik dalam POME sebagian besar tersusun dari debris lignoselulosa yang berasal dari mesokarp buah

kelapa sawit, meliputi selulosa dengan proporsi 14,34–44,08% dan hemiselulosa sebesar 10,76–25,5%, dan lignin sebesar 42% dari fraksi tidak terlarutnya (Rupani *et al.*, 2010). Selain komponen lignoselulosa tersebut, POME juga mengandung lignin dengan konsentrasi mencapai 4.700 mg/L, pektin sebesar 3.400 mg/L, senyawa fenolik sebesar 5.800 mg/L, serta tanin yang keseluruhan komponen tersebut turut berkontribusi pada karakteristik warna gelap dan beban organik tinggi pada POME (Meena *et al.*, 2023). Di samping itu, POME juga mengandung nitrogen organik dalam bentuk protein dan asam amino yang berasal dari residu sel mesokarp buah kelapa sawit yang terlepas selama proses pengolahan (Mohammad *et al.*, 2021).

POME dihasilkan dalam jumlah besar dan mengandung polutan berkonsentrasi tinggi (Imam *et al.*, 2025), di mana setiap satu ton minyak sawit menghasilkan sekitar 2,5 m³ POME. Dengan produksi minyak sawit Indonesia sekitar 46 juta ton pada tahun 2022/2023 (Darwin *et al.*, 2021), volume POME diperkirakan mencapai ± 115 juta m³ per tahun (Zulfahmi *et al.*, 2021). Kandungan bahan organik yang tinggi menjadikan POME berpotensi mencemari lingkungan darat dan perairan jika tidak dikelola dengan baik (Vijayan *et al.*, 2024).



Gambar 2.4 Limbah padat hasil pengolahan kelapa sawit
(Anwar & Arthanareeswaran, 2019).

Secara fisik, POME berupa cairan kental berwarna coklat dengan kandungan air 95–96%, minyak 0,6–0,7%, dan padatan tersuspensi 2–4%, serta kaya senyawa organik kompleks seperti karoten, pektin, tanin, fenolik, dan lignin (Mohammad *et al.*, 2021). Penelitian Elvitriana *et al.* (2021) menunjukkan bahwa POME memiliki kandungan BOD 18.000–48.000 mg/L, COD 45.000–65.000 mg/L, dan total nitrogen 500–800 mg/L, yang jauh melebihi baku mutu air limbah industri sesuai Peraturan Menteri Lingkungan Hidup Nomor 5 Tahun 2014 sebagaimana ditampilkan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Baku Mutu Air Limbah Industri Minyak Sawit

Parameter	Satuan	Maksimum
pH	-	6,0-9,0
BOD	mg/L	100
COD	mg/L	350
TSS	mg/L	250
Minyak dan Lemak	mg/L	25
Amonia	mg/L	50

Palm Oil Mill Effluent (POME) memiliki daya cemar yang tinggi dan berpotensi menurunkan kualitas air apabila dibuang tanpa melalui proses pengolahan terlebih dahulu, karena dapat menurunkan kadar oksigen terlarut, menyebabkan kematian organisme akuatik, serta menimbulkan bau dan warna yang mengganggu kualitas lingkungan. Limbah cair industri kelapa sawit yang mengandung bahan organik tinggi berpotensi mencemari air tanah, sungai, dan danau, mengganggu keseimbangan ekosistem perairan, serta memberikan dampak tidak langsung terhadap kesehatan manusia. Apabila nilai *Biological Oxygen Demand* (BOD) dan *Total Suspended Solids* (TSS) melebihi baku mutu yang ditetapkan dan limbah dibuang tanpa pengolahan yang memadai, maka kondisi

tersebut dapat menimbulkan ancaman serius terhadap ekosistem perairan (Rama, 2019). Sebagian besar pabrik kelapa sawit yang berlokasi di sekitar aliran sungai berpotensi mencemari badan air penerima apabila POME tidak dikelola secara optimal. Proses pembusukan limbah dapat menghasilkan senyawa amonia yang berdampak negatif terhadap kehidupan biota perairan serta menimbulkan bau tidak sedap di lingkungan sekitar (Alqorni *et al.*, 2024). Pembuangan POME yang tidak terkendali juga dapat memperparah tingkat pencemaran sungai dan danau, mengganggu keseimbangan ekosistem perairan, serta berpotensi menimbulkan dampak terhadap kesehatan manusia akibat penurunan kualitas lingkungan perairan (Dewi & Lamona, 2025). Tingginya kandungan bahan organik dalam POME, khususnya lignin, merupakan salah satu faktor utama penyebab tingginya nilai *Biological Oxygen Demand* (BOD) dan *Chemical Oxygen Demand* (COD). Lignin merupakan senyawa polimer aromatik kompleks yang bersifat resisten terhadap degradasi biologis, sehingga berkontribusi besar terhadap tingkat pencemaran dan menyulitkan proses pengolahan limbah cair kelapa sawit.

Penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Putri & Febria (2023) mengkaji tentang pengolahan *Palm Oil Mill Effluent* (POME) dengan fokus pada penurunan warna melalui isolasi dan pengujian bakteri *indigenous* dari limbah cair POME. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 11 isolat bakteri berhasil diisolasi dan mampu menurunkan warna POME dengan tingkat dekolorisasi sebesar 7%–28,98%, di mana isolat IBDP-5 memiliki kemampuan tertinggi. Isolat yang diperoleh terdiri atas bakteri gram positif dan gram negatif berbentuk basil dan kokus, dengan kemampuan dekolorisasi yang dikaitkan dengan degradasi senyawa fenolik kompleks, seperti lignin dan tanin. Penelitian ini menunjukkan potensi bakteri

indigenous POME sebagai agen biologis ramah lingkungan dalam proses dekolonisasi limbah cair kelapa sawit.

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Ganapathy *et al.* (2019) menunjukkan bahwa pengolahan *Palm Oil Mill Effluent* (POME) dapat dilakukan melalui metode bioremediasi dengan memanfaatkan aktivitas mikroorganisme. Penelitian ini mengkaji kemampuan ragi *indigenous Meyerozyma guilliermondii* dalam mendegradasi POME secara aerobik. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa ragi ini mampu menggunakan POME sebagai sumber karbon tunggal serta secara efektif menurunkan beban pencemar, ditunjukkan oleh penurunan nilai *Chemical Oxygen Demand* (COD) sebesar 72%, total nitrogen sebesar 49,2%, serta minyak dan lemak hingga 92,4% dalam kurun waktu tujuh hari. Lebih lanjut, hasil analisis *Fourier Transform Infrared* (FTIR) dan *Gas Chromatography–Mass Spectrometry* (GC-MS) mengindikasikan bahwa *Meyerozyma guilliermondii* mampu mendegradasi berbagai senyawa organik kompleks dalam POME, seperti hidrokarbon, asam lemak, dan senyawa fenolik yang berkontribusi terhadap tingginya intensitas warna dan beban pencemar organik. Temuan ini menegaskan bahwa pemanfaatan mikroorganisme *indigenous* berpotensi menjadi metode bioremediasi yang efektif untuk menurunkan tingkat pencemaran serta memperbaiki karakteristik POME sebelum dibuang ke lingkungan.

2.3 *Pseudomonas aeruginosa*

Salah satu bakteri ligninolitik yang diketahui memiliki kemampuan tinggi dalam mendegradasi lignin adalah *Pseudomonas aeruginosa*. Bakteri ini mempunyai sejumlah karakteristik unggul yang mendukung pemanfaatannya dalam pengolahan limbah POME, seperti laju pertumbuhan yang relatif cepat

sehingga mampu meningkatkan efisiensi proses degradasi, toleransi yang baik terhadap perubahan kondisi lingkungan, serta kemampuan menggunakan beragam sumber karbon untuk mendukung pertumbuhan (Grgas *et al.*, 2023). Selain itu, bakteri *indigenous* yang diisolasi langsung dari limbah POME menunjukkan kemampuan adaptasi alami terhadap kandungan senyawa organik kompleks dalam limbah tersebut, sehingga berpotensi memberikan efektivitas yang lebih tinggi dibandingkan mikroorganisme eksogen. Di samping itu, penerapan teknologi fermentasi bakteri umumnya lebih sederhana serta lebih mudah dikontrol pada skala besar dibandingkan dengan proses kultivasi fungi (Xu *et al.*, 2018).

Pseudomonas aeruginosa tergolong dalam kelompok Proteobacteria dan termasuk salah satu spesies yang umum ditemukan dalam famili Pseudomonadaceae. Bakteri ini pertama kali diidentifikasi oleh Carle Gessard pada tahun 1882, seorang ahli bakteriologi dan kimia asal Prancis. Secara morfologis, *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri Gram-negatif berbentuk batang dengan ukuran berkisar antara 0,5–0,8 μm dan memiliki satu flagela yang berfungsi sebagai alat gerak. Berdasarkan karakter fisiologinya, bakteri ini menunjukkan hasil positif pada uji oksidase namun tidak memiliki kemampuan untuk memfermentasi laktosa. Keberadaan *Pseudomonas aeruginosa* tersebar luas di lingkungan, meliputi tanah, air, tumbuhan, serta pada permukaan kulit hewan (Hussain & Mschachal, 2022). Berikut adalah klasifikasi dari *Pseudomonas aeruginosa* menurut Diggle & Whiteley (2019) sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Pseudomonadales
Family	: Pseudomonadaceae
Genus	: <i>Pseudomonas</i>
Spesies	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>



Gambar 2.5 *Pseudomonas aeruginosa*
(Purwanti *et al.*, 2019)

Menurut Sekhi (2022) *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri berbentuk batang (bacillus) Gram-negatif yang tidak membentuk spora maupun kapsul. Bakteri ini bersifat motil dengan satu atau dua flagela yang terletak secara polar. Secara fisiologis, *Pseudomonas aeruginosa* digolongkan sebagai bakteri aerob obligat, namun mampu beradaptasi dan tumbuh secara anaerob apabila terdapat nitrat sebagai akseptor elektron terminal (Govan, 2007). Bentuk selnya dapat ditemukan secara tunggal, berpasangan, maupun dalam rantai pendek dengan ukuran sekitar $0,6 \times 2 \mu\text{m}$ (Brooks *et al.*, 2004).

Bakteri ini memiliki kemampuan beradaptasi yang tinggi terhadap kondisi lingkungan ekstrem. *Pseudomonas aeruginosa* mampu bertahan pada lingkungan

dengan kadar karbon dan nitrogen rendah, baik di media sederhana maupun pada permukaan lembap. Selain itu, bakteri ini diketahui mampu mendegradasi senyawa hidrokarbon aromatik polisiklik serta menghasilkan berbagai metabolit sekunder seperti lektin, ramnolipid, kuinolon, hidrogen sianida, dan fenazin, terutama saat tumbuh di lingkungan tanah (Sekhi, 2022).

Pertumbuhan optimal *Pseudomonas aeruginosa* terjadi pada suhu 37°C, namun bakteri ini juga dapat tumbuh pada rentang suhu ekstrem, yaitu hingga 42°C maupun serendah 4°C (Iglewski, 1991). Kemampuan untuk tumbuh pada suhu 42°C menjadi karakteristik khas yang membedakan *Pseudomonas aeruginosa* dari spesies *Pseudomonas* lain yang bersifat fluoresen (Brooks *et al.*, 2007). Bakteri ini memiliki aktivitas enzim oksidase positif dan meskipun tidak dapat memfermentasi karbohidrat, sebagian besar strainnya mampu mengoksidasi glukosa. Karakteristik morfologi koloni, hasil positif pada uji oksidase, keberadaan pigmen khas, serta kemampuan tumbuh pada suhu 42°C menjadi indikator penting dalam proses identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* secara mikrobiologis (Todar, 2008).

Pseudomonas aeruginosa dikategorikan sebagai bakteri ligninolitik karena memiliki kemampuan untuk mendegradasi serta memodifikasi struktur lignin yang kompleks. Kemampuan tersebut berkaitan erat dengan kemampuannya dalam menghasilkan berbagai enzim ligninolitik yang berperan penting dalam proses oksidasi dan depolimerisasi lignin. Beberapa enzim utama yang dihasilkan oleh bakteri ini meliputi *laccase* (LaC), lignin peroksidase (LiP), mangan peroksidase (MnP), dan *dye-decolorizing* peroksidase (DyP). Keempat enzim tersebut bekerja secara sinergis dalam memutus ikatan aromatik dan fenolik pada lignin, sehingga

menghasilkan senyawa-senyawa sederhana yang selanjutnya dapat dimanfaatkan oleh sel bakteri sebagai sumber karbon dan energi (Grgas *et al.*, 2023).

Penelitian yang dilakukan oleh Yang *et al.* (2018) melaporkan bahwa berbagai spesies *Pseudomonas* seperti *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas plecoglossicida*, dan *Pseudomonas aeruginosa* memiliki kemampuan dalam mendegradasi lignin pada berbagai jenis substrat, termasuk limbah dari industri pulp dan kertas. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Yang *et al.* (2018), *Pseudomonas sp.* Q18 yang diisolasi dari kayu yang telah mengalami pembusukan menunjukkan kemampuan yang signifikan dalam mendegradasi lignin pada berbagai jenis bahan lignoselulosa, seperti *switchgrass*, batang jagung, dan jerami gandum. Hasil penelitian tersebut memperlihatkan bahwa aktivitas degradasi lignin tertinggi terjadi pada substrat *switchgrass* dengan persentase sebesar 25%, sedangkan pada batang jagung dan jerami gandum menunjukkan nilai yang relatif lebih rendah. Proses degradasi yang terjadi menyebabkan lignin terurai menjadi fragmen-fragmen berukuran lebih kecil. Aktivitas tersebut berkaitan dengan kemampuan *Pseudomonas sp.* Q18 dalam menghasilkan senyawa aromatik, yang diduga merupakan hasil reaksi antara metabolit primer mikroba dengan produk pemecahan lignin setelah proses degradasi berlangsung. Kemampuan bakteri ini dalam menguraikan lignin diduga dipengaruhi oleh keberadaan enzim DyP-type peroksidase, yang berfungsi memutus ikatan β -O-4 pada struktur lignin serta mengonversi senyawa aromatik kompleks menjadi bentuk yang lebih sederhana dan mudah dimanfaatkan (Yang *et al.*, 2018).

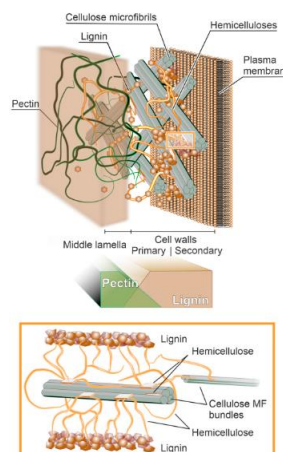
2.4 Mekanisme Degradasi Lignin oleh Mikroorganisme

Lignin merupakan salah satu polimer alami paling melimpah di alam dan berperan sebagai komponen utama penyusun dinding sel tumbuhan, dengan produksi alami diperkirakan mencapai sekitar 20 miliar ton per tahun (Hodasova *et al.*, 2015). Selain itu, industri pulp dan kertas menghasilkan lignin dalam jumlah besar, yaitu sekitar 50–70 juta ton per tahun (Bajwa *et al.*, 2019). Lignin tergolong senyawa polifenol berikatan silang yang terbentuk melalui proses polimerisasi senyawa aromatik dengan kerangka p-hidroksinamat sebagai struktur utama (Balk *et al.*, 2023), serta dikenal sebagai sumber aromatik alami paling melimpah yang berpotensi sebagai bahan pengganti berbasis hayati untuk prekursor polimer fenolik berbahan fosil (Lawoko *et al.*, 2021).

Lignin sebagai biopolimer terbanyak kedua setelah selulosa memiliki struktur poliaromatik yang reaktif terhadap senyawa substituen seperti formaldehida (Lawoko *et al.*, 2021). Lignin bersifat sukar larut dalam air dan asam mineral kuat, namun dapat larut dalam pelarut organik dan larutan alkali encer (Puss *et al.*, 2023). Dalam dinding sel tumbuhan, lignin berasosiasi erat dengan selulosa, hemiselulosa, dan pektin, mengisi ruang antarserat sehingga memperkuat struktur dinding sel dan menurunkan permeabilitas air. Interaksi ini membentuk struktur lignoselulosa yang juga ditemukan pada limbah cair pabrik kelapa sawit (POME) (Lawoko *et al.*, 2021), sehingga POME kaya akan bahan organik kompleks yang sulit terdegradasi secara alami (Ibrahim *et al.*, 2018).

Peran lignin sebagai pengikat alami dalam struktur tumbuhan berfungsi memperkuat jaringan, melindungi dari tekanan mekanik dan serangan mikroba, serta memberikan sifat hidrofobik yang mengurangi penyerapan air berlebih (Wu

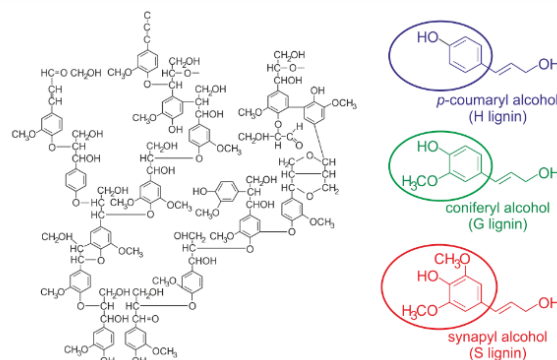
et al., 2023). Lignin terutama terdistribusi pada lapisan sekunder dinding sel dan berasosiasi erat dengan selulosa, hemiselulosa, serta pektin, sehingga berperan penting dalam meningkatkan ketahanan jaringan terhadap degradasi kimia dan biologis (Balk *et al.*, 2023). Kompleksitas dan sifat resisten lignin inilah yang menjadi tantangan utama dalam pengolahan limbah berbasis biomassa, termasuk POME, sehingga diperlukan pendekatan biologis seperti bioremediasi menggunakan mikroorganisme pengurai lignin untuk menurunkan kadar senyawa organik di dalamnya.



Gambar 2.6 Struktur ultra tumbuhan yang menunjukkan posisi lignin, selulosa, hemiselulosa, dan pektin
(Balk *et al.*, 2023)

Lignin merupakan biopolimer polifenolik yang memiliki karakteristik struktur kompleks dan menunjukkan variasi komposisi sesuai dengan jenis biomassa penyusunnya. Secara kimia, lignin tersusun atas berbagai gugus fungsi, antara lain karboksil, metoksil, dan karbonil, serta terdiri dari tiga unit monomer utama, yaitu p-hidroksifenil (H), guaiasil (G), dan siringil (S), dengan proporsi yang berbeda pada setiap sumber lignoselulosa (Mateo *et al.*, 2025). Pembentukan lignin terjadi melalui proses polimerisasi radikal dari ketiga unit monomer tersebut,

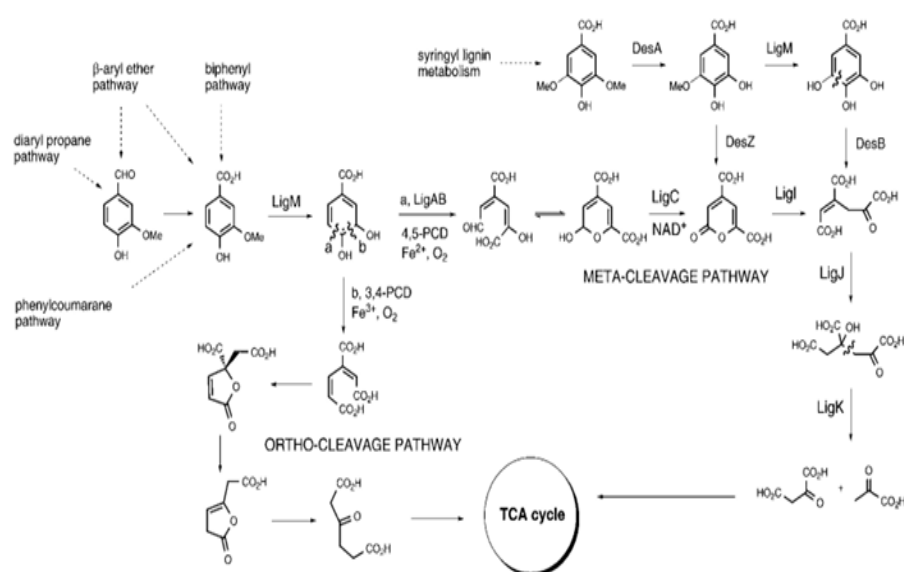
menghasilkan struktur matriks yang padat dan tidak beraturan, sehingga memberikan sifat kuat dan resisten terhadap degradasi kimia maupun biologis. Secara umum, lignin pada kayu lunak didominasi oleh unit G, lignin pada kayu keras tersusun atas campuran unit G dan S, sedangkan lignin pada tumbuhan herba terdiri atas kombinasi unit G dan H (Biko *et al.*, 2020). Perbedaan komposisi monomer ini berpengaruh terhadap karakteristik fisik dan kimia lignin, termasuk rendahnya tingkat kelarutan lignin dalam air yang dipengaruhi oleh keberadaan gugus hidroksi, karbonil, dan metoksil dalam struktur kimianya (Pramana *et al.*, 2020). Ilustrasi mengenai struktur kimia lignin serta karakteristik gugus fungsi dan komposisi monomernya disajikan pada Gambar 2.6.



Gambar 2.7 Struktur dasar lignin pada biomassa *lignoselulosa* dan tiga unit penyusunnya: *p*-hydroxyphenyl (biru), *guaiacyl* (hijau), dan *syringyl* (merah) (Mateo *et al.*, 2025)

Proses degradasi lignin oleh mikroorganisme melibatkan pemecahan fragmen lignin menjadi senyawa-senyawa sederhana yang dapat digunakan sebagai sumber karbon dan energi. Jalur aryl ether (β -O-4) menjadi jalur utama karena ikatan β -O-4 merupakan komponen dominan lignin. Setelah gugus hidroksil benzil hilang, terbentuk ikatan C-C baru, dan melalui jalur katabolik *biphenyl*, cincin benzena dipecah menjadi senyawa mono-benzena atau alifatik. Secara garis besar, jalur degradasi lignin yang dikenal meliputi jalur β -aryl ether, jalur *biphenyl*, jalur

diarylpropane, dan jalur *phenylcoumarane* (Gambar 2.9) (Bugg *et al.*, 2011). Proses degradasi ini berlangsung melalui tiga tahap utama, yaitu depolimerisasi lignin, katabolisme senyawa aromatik melalui jalur ortho atau meta (*β -ketoadipate*), dan pemutusan rantai karbon senyawa aromatik sebelum akhirnya masuk ke siklus asam sitrat (TCA) (Weng *et al.*, 2021). Produk akhirnya berupa asam organik yang dapat digunakan dalam metabolisme karbon pusat (Cui *et al.*, 2022).

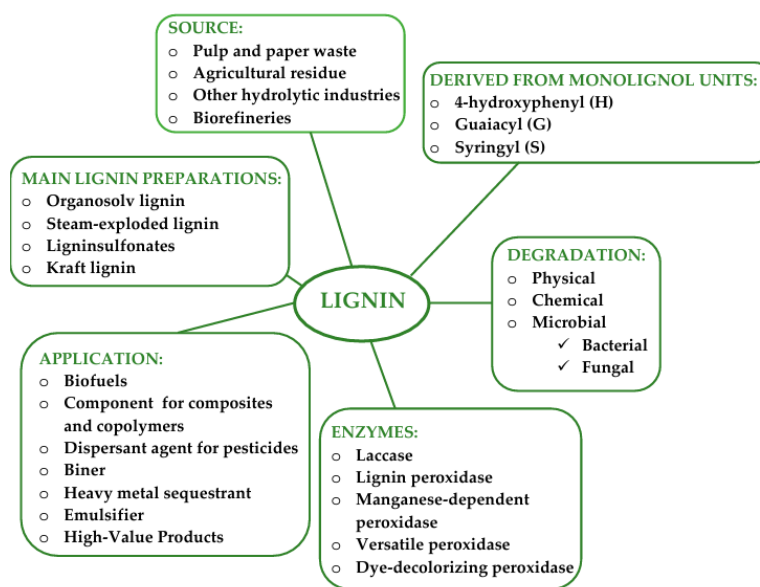


Gambar 2.8 Jalur degradasi lignin oleh mikroorganisme
(Bugg *et al.*, 2011)

Lignin merupakan salah satu penyusun utama biomassa yang tersusun dari senyawa aromatik berstruktur kompleks. Melalui proses degradasi secara biologis, lignin akan diuraikan menjadi senyawa-senyawa fenolik serta asam aromatik berukuran kecil. Produk hasil penguraian tersebut memiliki potensi untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam berbagai bidang industri.

Berdasarkan Gambar 2.8, hasil degradasi lignin dapat dimanfaatkan sebagai biofuel (bahan bakar hayati) karena kandungan senyawa aromatiknya dapat dikonversi menjadi hidrokarbon. Selain itu, senyawa turunan lignin juga berperan

penting sebagai bahan pembentuk komposit dan kopolimer, agen dispersi pada pestisida, bahan pengikat (*binder*), penyerap logam berat (*heavy metal sequestrant*), emulsifier, serta bahan dasar untuk produk bernilai tinggi (*high-value products*) seperti vanillin dan berbagai senyawa aromatik lainnya.



Gambar 2.9 Diagram hubungan tentang sumber, jenis degradasi, dan aplikasi lignin
(Grgas *et al.*, 2023)

Proses degradasi lignin sendiri melibatkan pemecahan polimer alkil-aromatik menjadi senyawa yang lebih sederhana melalui dua tahap utama, yaitu depolimerisasi dan pemutusan cincin aromatik. Tahap depolimerisasi berlangsung melalui mekanisme degradasi oksidatif, sedangkan tahap pemutusan cincin aromatik melibatkan transfer elektron jarak jauh serta oksidasi gugus fenolik (Higuchi, 2004). Pada bakteri maupun jamur, pemutusan cincin aromatik dikatalisis oleh enzim *dioxygenase* yang mengandung besi non-heme, yaitu intradiol dan ekstradiol *dioxygenase* (Semana & Powlowski, 2019). Enzim *intradiol dioxygenase* berperan dalam memutus substrat katekolik di antara dua gugus hidroksil dengan

memanfaatkan pusat Fe (III) non-heme, sedangkan ekstradiol dioxygenase memutus substrat katekolik di posisi yang berdekatan dengan gugus hidroksil dan umumnya mengandung pusat Fe (II) non-heme (Hsin *et al.*, 2025).

2.5 Mekanisme Dekolorisasi pada Limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME)

oleh Mikroorganisme

Limbah cair kelapa sawit atau *Palm Oil Mill Effluent* (POME) umumnya memiliki warna cokelat tua hingga kehitaman yang menunjukkan tingginya kandungan bahan organik kompleks di dalamnya. Warna gelap pada POME terutama disebabkan oleh keberadaan komponen alami dari tanaman, seperti lignin dan senyawa fenolik, serta hasil proses polimerisasi ulang senyawa pewarna (Tamrin & Zahrim, 2017). Warna gelap pada POME terutama disebabkan oleh kandungan senyawa organik alami, seperti karoten (± 8 mg/L), pektin (± 3400 mg/L), tanin, senyawa fenolik (± 5800 mg/L), serta lignin (± 4700 mg/L) (Khan *et al.*, 2025). Kandungan senyawa organik pada limbah *Palm Oil Mill Effluent* dapat dilihat pada gambar 2.15. Selain itu, tingginya kadar senyawa aromatik, termasuk tanin, lignin, dan melanoidin, turut memperkuat intensitas warna pada limbah tersebut. Senyawa-senyawa tersebut memiliki struktur kimia yang stabil dan tahan terhadap proses degradasi, baik secara kimia maupun biologis, sehingga menyebabkan warna POME sulit dihilangkan dan dapat bertahan lama di lingkungan perairan (Putri & Febria, 2023).

Tabel 2.2 Karakteristik kandungan senyawa organik pada limbah POME

Parameter	Rentang Konsentrasi (mg/L)	Batas Buang yang Diizinkan (mg/L)
<i>Chemical Oxygen Demand</i> (COD)	15.000-100.000	-
<i>Biochemical Oxygen Demand</i> (BOD)	10.250-43.750	100

Parameter	Rentang Konsentrasi (mg/L)	Batas Buang yang Diizinkan (mg/L)
Warna	Cokelat	-
Total Suspended Solids (TSS)	5.000-54.000	400
Minyak dan lemak	130-18.000	50
Suhu (°C)	80-90	45
pH	Asam, 3,4-5,2	5-9
Total padatan Volatil	10.000-50.000	-
Nitrogen Amonia (NH ₃ - N)	25-35	-
Total Nitrogen (T.N.)	180-800	200
Pektin	3.400	-
Lignin	4700	-
Karoten	8	-
Fenolik	5.800	-
Fosfor (P)	120-140	-
Kalium (K)	2.200-3.000	-
Magnesium (Mg)	600-700	-
Kalsium (Ca)	400-500	-
Boron (B)	7-8	-
Mangan (Mn)	8,139	-
Tembaga (Cu)	3-4	-
Seng (Zn)	25-30	-
Besi (Fe)	150-200	-

Sumber: Meena *et al.* (2023)

Batas maksimum pembuangan yang tercantum pada Tabel 2.2 mengacu pada standar baku mutu yang ditetapkan oleh *Department of Environment* (DOE) Malaysia, sebagaimana dilaporkan oleh Meena *et al.* (2023). Sementara itu, di Indonesia, baku mutu air limbah industri kelapa sawit diatur dalam Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan Nomor 5 Tahun 2014 tentang Baku Mutu Air Limbah. Terdapat perbedaan nilai pada beberapa parameter, di mana Indonesia menerapkan batas yang lebih ketat, seperti TSS sebesar 250 mg/L (Malaysia: 400 mg/L), minyak dan lemak sebesar 25 mg/L (Malaysia: 50 mg/L), serta Total Nitrogen sebesar 50 mg/L (Malaysia: 200 mg/L).

Selain lignin dan senyawa fenolik, salah satu komponen penting yang berperan besar terhadap pewarnaan gelap pada POME adalah melanoidin yang terbentuk selama proses pengolahan minyak sawit. Proses pemanasan yang terjadi selama pengolahan minyak sawit dapat memicu terjadinya reaksi Maillard, yaitu reaksi antara gula pereduksi dan protein yang menghasilkan senyawa berwarna gelap dikenal sebagai melanoidin. Senyawa ini memiliki struktur yang kompleks, bersifat stabil, dan sukar terdegradasi secara biologis, sehingga berkontribusi terhadap peningkatan intensitas warna pada limbah cair kelapa sawit. Melanoidin merupakan salah satu komponen utama yang menyebabkan warna cokelat tua pada *Palm Oil Mill Effluent* (POME). Senyawa melanoidin sendiri merupakan pigmen berwarna cokelat dengan struktur polimer heterogen dan berat molekul yang relatif tinggi. Pembentukan melanoidin terjadi melalui reaksi kondensasi antara gula pereduksi dan asam amino pada suhu tinggi dengan kadar air yang rendah. Selain gula dan asam amino, keberadaan asam organik seperti asam asetat, asam laktat, asam piroglutamat, asam suksinat, dan asam format juga dapat memperkuat intensitas warna melanoidin (Villaño *et al.*, 2016).

Di samping reaksi Maillard, proses pembentukan melanoidin juga dapat berlangsung melalui karamelisasi, yaitu proses pemanasan bahan organik yang menghasilkan senyawa berwarna gelap (Rofiah & Machfudz, 2014). Warna gelap pada POME yang berasal dari lignin, senyawa fenolik, dan melanoidin umumnya sulit dihilangkan dengan proses fisik maupun kimia karena sifatnya yang stabil dan tahan terhadap degradasi. Oleh karena itu, pendekatan biologis menjadi alternatif yang lebih efektif dan ramah lingkungan yaitu melalui proses dekolorisasi (Zahra *et al.*, 2020). Dekolorisasi merupakan proses penghilangan atau penurunan

intensitas warna pada suatu senyawa melalui aktivitas biologis organisme, terutama mikroorganisme yang mampu mendegradasi senyawa penyebab warna menjadi bentuk yang lebih sederhana dan tidak berwarna (Irawati *et al.*, 2022).

Proses dekolorisasi secara biologis umumnya berlangsung melalui aktivitas enzimatik atau biosorpsi yang dilakukan oleh mikroorganisme. Velan *et al.* (2012) melaporkan bahwa bakteri indigen dapat menghasilkan enzim ekstraseluler yang berfungsi dalam mempercepat penguraian senyawa toksik. Selain itu, mikroorganisme yang berasal dari lingkungan tercemar memiliki tingkat adaptasi yang tinggi, sehingga tetap mampu tumbuh dan melakukan proses degradasi meskipun berada dalam kondisi yang mengandung senyawa berbahaya (Fidiastuti & Suarsini, 2017).

Penelitian yang dilakukan oleh Irawati *et al.* (2022) menunjukkan bahwa pendekatan biologis memiliki potensi besar dalam proses dekolorisasi. Hal ini dibuktikan melalui kemampuan *Escherichia coli* strain CN5 dalam mendegradasi methylene blue hingga 92,47% dalam kurun waktu 24 jam. Mekanisme dekolorisasi tersebut mencakup reduksi ikatan kromofor serta aktivitas enzim seperti azoreduktase dan lakase yang telah diketahui berperan dalam degradasi berbagai senyawa pewarna dan komponen aromatik kompleks (Pinheiro *et al.*, 2022). Selain itu, mekanisme biosorpsi yang terjadi melalui interaksi muatan pada dinding sel bakteri dengan molekul pewarna juga berkontribusi terhadap penurunan intensitas warna (Kuhad *et al.*, 2004).

Secara umum, metode biologis memiliki beberapa kelebihan, antara lain:

1. Prosesnya lebih ramah lingkungan dibandingkan metode kimia,

2. Mampu bekerja secara efektif pada konsentrasi polutan rendah (Yasid, 2014),
3. Mempunyai kemampuan adaptasi yang baik terhadap kondisi toksik melalui mekanisme genetis dan fisiologis (Ryan *et al.*, 2009)
4. Tidak menghasilkan residu yang berpotensi mencemari lingkungan.

Walaupun demikian, metode biologis juga memiliki keterbatasan. Efektivitas proses sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti pH, suhu, ketersediaan nutrisi, dan konsentrasi polutan. Kehadiran logam berat seperti CuSO₄ diketahui dapat menurunkan kemampuan dekolorisasi bakteri, misalnya dari 92,47% menjadi 75,59% (Irawati *et al.*, 2022).

Dengan mempertimbangkan bahwa senyawa utama penyebab warna pada POME, meliputi lignin, fenol, tanin, dan melanoidin, memiliki struktur aromatik yang kompleks serta menunjukkan resistensi tinggi terhadap proses degradasi fisik maupun kimia, maka penggunaan pendekatan biologis yang bertumpu pada aktivitas enzimatik mikroorganisme menjadi strategi yang lebih tepat. Dalam hal ini, mikroorganisme ligninolitik, khususnya bakteri yang mampu menghasilkan enzim oksidatif seperti lignin peroksidase, mangan peroksidase, dan lakase, berperan penting dalam proses depolimerisasi dan penguraian senyawa aromatik tersebut.

2.6 Bakteri Lignolitik

Bakteri ligninolitik merupakan kelompok mikroorganisme yang memiliki kemampuan dalam mendegradasi serta memanfaatkan lignin sebagai sumber karbon dan energi. Kemampuan tersebut berkaitan erat dengan keberadaan enzim-enzim oksidatif, seperti lignin peroksidase (LiP) dan mangan peroksidase (MnP),

yang berperan penting dalam proses oksidasi dan depolimerisasi struktur lignin yang kompleks (Xu *et al.*, 2018).

Secara umum, bakteri ligninolitik termasuk dalam filum Actinobacteria, Proteobacteria, dan Firmicutes, serta banyak ditemukan pada lingkungan yang kaya bahan organik seperti tanah humus, jerami, dan silase yang mengandung sisa-sisa lignoselulosa dalam jumlah tinggi. Karakteristik utama bakteri ligninolitik meliputi kemampuan tumbuh dengan lignin sebagai satu-satunya sumber karbon, membentuk koloni pada media selektif lignin, serta menghasilkan enzim oksidatif yang mampu mendekolorisasi pewarna anilin biru sebagai indikator aktivitas ligninolitik. Habitat alami bakteri ligninolitik meliputi tanah kaya humus, kompos jerami, dan silase, tempat di mana terdapat akumulasi bahan organik lignoselulosa yang mendukung pertumbuhan mikroorganisme degradasi lignin (Xiong *et al.*, 2020).

Biodegradasi lignin secara biologis umumnya melibatkan mikroorganisme ligninolitik yang berasal dari kelompok fungi dan bakteri. Fungi white-rot seperti *Phanerochaete chrysosporium* diketahui memiliki kemampuan yang sangat baik dalam mendegradasi lignin, dengan tingkat degradasi mencapai 95%, karena mampu menghasilkan enzim ligninase ekstraseluler yang aktif (Kirk & Farrell, 1987). Meskipun demikian, penggunaan fungi dalam pengolahan limbah cair seperti POME masih menghadapi berbagai kendala. Fungi memerlukan kondisi lingkungan tertentu, seperti pH asam berkisar 4–5 dan suhu optimum 25–30°C, memiliki pertumbuhan yang relatif lambat, serta rentan terhadap perubahan kondisi lingkungan pada sistem limbah yang dinamis. Selain itu, sifatnya yang aerob obligat menyebabkan fungi membutuhkan suplai oksigen dalam jumlah tinggi, sehingga

aplikasinya pada pengolahan limbah skala besar menjadi kurang optimal (Hatakka, 1994). Di sisi lain, bakteri ligninolitik menawarkan sejumlah keunggulan dibandingkan fungi, di antaranya laju pertumbuhan yang lebih cepat, toleransi yang lebih tinggi terhadap perubahan pH, suhu, maupun senyawa toksik, serta kemampuan adaptasi yang baik pada limbah dengan komposisi kompleks (Grgas *et al.*, 2023). Keunggulan tersebut menjadikan bakteri ligninolitik lebih berpotensi untuk diterapkan dalam proses biodegradasi lignin pada berbagai limbah industri, termasuk POME (Xu *et al.*, 2018).

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengkaji potensi bakteri ligninolitik dalam menghasilkan enzim ligninase yang berperan dalam proses degradasi lignin. Penelitian yang dilakukan oleh Prakoso *et al.* (2014) berhasil mengisolasi bakteri aerob ligninolitik dari proses pengomposan tandan kosong kelapa sawit, dan memperoleh 23 isolat bakteri yang memiliki kemampuan dalam mendegradasi lignin serta menunjukkan aktivitas enzim lakase, lignin peroksidase, dan mangan peroksidase pada masing-masing isolat. Penelitian yang dilakukan oleh Jiang *et al.* (2020) mengevaluasi tentang potensi bakteri psikotrofik *Arthrobacter* sp. C2 yang diisolasi dari tanah dalam mendegradasi lignin, serta menunjukkan adanya aktivitas enzim lignin peroksidase dan mangan peroksidase. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa tingkat degradasi lignin mencapai 40,1% pada kondisi optimal, yaitu pH 6,47 dan suhu 14,9°C. Temuan ini mengindikasikan bahwa proses penguraian lignin dapat berlangsung secara efektif bahkan pada lingkungan bersuhu rendah, karena bakteri psikotrofik memiliki efisiensi katalitik yang tinggi.

Selain itu, Zhang & Liu (2021) melakukan penelitian mengenai isolasi dan karakterisasi strain bakteri baru yang mampu mendegradasi lignin. Strain tersebut, yang diidentifikasi sebagai *Burkholderia* sp. H801 (kode M01-L2), diisolasi dari tanah hutan di Xishan Forest Park, Hangzhou, China. Hasil penelitian menunjukkan bahwa strain ini mampu mendegradasi lignin jenis kraft hingga 49,8% dalam waktu enam hari pada konsentrasi awal lignin 1 g/L. Aktivitas enzim yang berperan utama dalam proses degradasi adalah mangan peroksidase (MnP) dan laccase (Lac), dengan aktivitas maksimum masing-masing mencapai 1544,4 U/L dan 757,9 U/L. Penelitian ini menegaskan bahwa bakteri *Burkholderia* sp. memiliki potensi tinggi dalam degradasi lignin secara efisien pada kondisi netral dan suhu optimum 35°C. Penelitian yang dilakukan oleh Gaur *et al.* (2018) yang membahas tentang isolasi dan karakterisasi enzim laccase yang dihasilkan oleh *Bacillus subtilis* sebagai agen degradasi lignin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *B. subtilis* mampu menghasilkan enzim laccase dengan aktivitas tinggi yang berperan penting dalam proses biodegradasi lignin. Aktivitas optimum enzim terjadi pada kondisi pH netral hingga sedikit basa dan suhu berkisar antara 30–40°C. Selain itu, enzim laccase dari bakteri ini menunjukkan kestabilan yang baik terhadap ion logam.

Selain itu, beberapa jenis bakteri juga memiliki kemampuan dalam memanfaatkan lignin melalui proses biokonversi secara biologis. Aktivitas bakteri tersebut berperan dalam mempercepat penguraian struktur lignin yang kompleks menjadi senyawa aromatik sederhana yang lebih mudah dimanfaatkan oleh organisme lain. Mekanisme ini berkontribusi penting terhadap proses daur ulang karbon dan degradasi biomassa lignoselulosa di alam, sehingga membantu mengurangi akumulasi bahan organik yang sulit terurai serta mendukung

keseimbangan ekosistem (Galazka *et al.*, 2025). Berbagai penelitian telah berhasil mengidentifikasi sejumlah bakteri yang memiliki aktivitas ligninolitik dengan tingkat efektivitas yang berbeda-beda tergantung pada kondisi lingkungan dan substrat yang digunakan. Beberapa di antaranya dapat dilihat pada Tabel 2.2 yang menunjukkan berbagai jenis bakteri ligninolitik, penghasil enzim ligninase dan kemampuannya dalam mendegradasi lignin.

Tabel 2.3 Beberapa jenis bakteri ligninolitik (Grgas *et al.*, 2023)

Genus	Spesies/ StrainB
<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus ligniniphilus</i> L1
	<i>Bacillus</i> sp
	<i>Bacillus</i> sp. ITRC-S8
	<i>Bacillus magnetrium</i>
	<i>Bacillus altitudinis</i> SL7
	<i>Bacillus flexus</i> RMWW II
	<i>Bacillus pumilus</i>
	<i>Bacillus atrophaeus</i>
	<i>Bacillus cereus</i>
	<i>Bacillus megaterium</i>
	<i>Bacillus</i> sp. (AY952465)
	<i>Bacillus edophyticus</i>
	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Arthrobacter</i>	<i>Arthrobacter</i> sp. C2
<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas</i> sp Q.18
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>Pseudomonas putida</i> NX1
	<i>Pseudomonas putida</i> A514
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Klebsiella</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>
<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia coli</i>

2.7 Analisis Kadar Lignin menggunakan Metode Klason

Metode Klason merupakan teknik analisis yang paling umum digunakan untuk menentukan kadar lignin dalam biomassa lignoselulosa secara kuantitatif (Galiwango *et al.*, 2018). Metode ini dikembangkan oleh Peter Klason pada awal abad ke-20 dan hingga saat ini tetap menjadi acuan utama dalam penetapan lignin karena tingkat akurasi dan konsistensinya yang tinggi (Brauns & Brauns, 2013).

Prinsip dasar metode klason melibatkan proses hidrolisis asam yang dilakukan melalui dua tahap. Pada tahap pertama, sampel diperlakukan dengan asam sulfat pekat 72% pada suhu rendah (10–15°C) untuk menguraikan serta melarutkan fraksi karbohidrat, terutama selulosa dan hemiselulosa (Lamtiar *et al.*, 2015). Selanjutnya, larutan asam diencerkan hingga mencapai konsentrasi 3% dan dipanaskan, sehingga memungkinkan terjadinya hidrolisis lanjutan terhadap polisakarida yang masih tersisa dan menghasilkan pengendapan lignin (Febriani, 2021).

Melalui proses tersebut diperoleh dua fraksi, yaitu lignin tidak larut asam (acid-insoluble lignin) dalam bentuk residu, dan lignin larut asam (*acid-soluble lignin*) dalam bentuk filtrat. Umumnya, jumlah lignin larut asam lebih rendah dibandingkan dengan lignin tidak larut asam (Brauns & Brauns, 2013). Dengan demikian, metode Klason mampu memisahkan sekaligus mengukur kandungan lignin secara tepat melalui kombinasi depolimerisasi karbohidrat oleh asam sulfat 72% dan hidrolisis lanjutan menggunakan asam sulfat 3%, sehingga menjadikannya salah satu metode yang paling banyak digunakan dalam analisis lignin pada berbagai studi (Lamtiar *et al.*, 2015).

Secara umum, metode Klason memberikan hasil yang kuantitatif dan akurat dalam menentukan kadar lignin pada biomassa lignoselulosa. Oleh karena itu, metode ini dinilai relevan untuk digunakan dalam penelitian biodegradasi lignin pada limbah cair kelapa sawit (POME) yang melibatkan aktivitas mikroorganisme seperti *Pseudomonas aeruginosa*.

2.8 Analisis Dekolorisasi Limbah Menggunakan Spektrofotometer UV-VIS

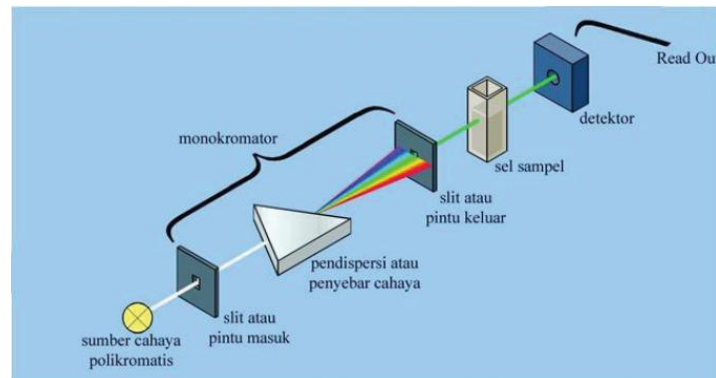
Spektrofotometer UV-Vis merupakan salah satu metode instrumen yang banyak digunakan dalam analisis kimia untuk mendeteksi senyawa, baik dalam

bentuk padat maupun cair, berdasarkan nilai absorpsi foton (Irawan, 2019). Metode ini memanfaatkan radiasi elektromagnetik pada rentang sinar ultraviolet (190–380 nm) dan sinar tampak (380–780 nm). Spektrum elektromagnetik tersusun atas berbagai jenis radiasi yang dibedakan berdasarkan energi foton dan panjang gelombangnya. Jika disusun dari energi paling rendah hingga yang paling tinggi, spektrum tersebut mencakup gelombang radio, gelombang mikro, radiasi inframerah, cahaya tampak, hingga radiasi ultraviolet (Abriyani *et al.*, 2023).

Secara umum, spektrofotometri UV-Vis lebih sering digunakan untuk analisis kuantitatif karena mampu memberikan hasil pengukuran yang lebih akurat dan terukur dibandingkan analisis kualitatif (Lexia & Ngibad, 2021). Dalam penerapannya, sampel sering kali memerlukan perlakuan tambahan atau proses derivatisasi, seperti penambahan reagen untuk membentuk garam kompleks dan bentuk kompleks lainnya. Identifikasi unsur kemudian dilakukan melalui senyawa kompleks yang terbentuk. Standar kualitas dan validitas kinerja hasil pengukuran menggunakan spektrofotometer dalam analisis kimia mengacu pada ISO 17025, *Good Laboratory Practice* (GLP), atau pedoman dari Pharmacopeia seperti EP, DAB, dan USP (Irawan, 2019). Spektrofotometri dikenal sebagai metode yang sederhana, cepat, spesifik, serta dapat diaplikasikan meskipun jumlah sampel relatif kecil. Seluruh proses analisis ini berlandaskan pada prinsip Hukum Lambert-Beer (Wahyuni *et al.*, 2022).

Prinsip kerja spektrofotometri UV-Vis bertumpu pada kemampuan atom dan molekul untuk menyerap cahaya saat berinteraksi dengan radiasi yang mengenainya. Berdasarkan Hukum Lambert-Beer, ketika sinar monokromatik melewati suatu senyawa, sebagian energi cahaya akan diserap, sebagian

dipantulkan, dan sebagian lainnya diteruskan. Proses penyerapan, pemantulan, maupun pemancaran cahaya ini terjadi karena material memperoleh energi dari radiasi yang datang atau berada pada kondisi suhu tertentu yang memungkinkan material tersebut menyerap dan memancarkan kembali cahaya tersebut (Triastuti *et al.*, 2023).



Gambar 2.10 Prinsip kerja spektrofotometri UV-VIS
(Suhartati, 2017)

Instrumen spektrofotometer UV-Vis memiliki beberapa keunggulan, di antaranya mampu menganalisis berbagai senyawa organik maupun anorganik, memiliki selektivitas yang baik, serta memberikan tingkat ketelitian yang tinggi dengan kesalahan relatif sekitar 1%–3%. Metode ini juga memungkinkan proses analisis berlangsung secara cepat dan tepat, bahkan pada kadar zat yang sangat rendah. Selain itu, tingkat akurasi hasil pengukuran cukup tinggi karena data yang ditangkap oleh detektor langsung direkam dan ditampilkan dalam bentuk nilai digital maupun grafik yang telah melalui proses regresi (Rohmah *et al.*, 2021) .

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental di laboratorium dengan pendekatan deskriptif kuantitatif. Analisis kadar lignin dilakukan menggunakan metode Klason, sedangkan dekolorisasi diukur melalui absorbansi atau metode Spektrofotometer UV-VIS. Pada penelitian ini, konsentrasi inokulum dan tingkat pengenceran ditetapkan sebagai variabel bebas, sedangkan persentase penurunan lignin dan persentase dekolorisasi berfungsi sebagai variabel terikat (Tabel 3.1 dan Tabel 3.2).

Tabel 3.1 Variasi konsentrasi inokulum terhadap penurunan kadar lignin

Konsentrasi Inokulum (%)	Degradasi Lignin (%)
0%	
5%	
10%	
15%	
20%	
25%	
30%	

Tabel 3.2 Variasi tingkat pengenceran terhadap dekolorisasi

Tingkat Pengenceran (%)	Dekolorisasi (%)
0%	
25%	
50%	
75%	
100%	

Penelitian degradasi lignin menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor perlakuan, yaitu variasi konsentrasi inokulum *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 0%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, dan 30%, dengan tiga kali ulangan pada setiap perlakuan. Data Analisis menggunakan uji *One-Way ANOVA* dan apabila terdapat pengaruh yang signifikan ($p < 0,05$), dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

Penelitian dekolorisasi limbah POME menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial dengan dua faktor perlakuan. Faktor pertama adalah Tingkat pengenceran limbah POME yang terdiri atas empat perlakuan yaitu 25%, 50%, 75%, dan 100%. Faktor kedua adalah waktu inkubasi yang terdiri atas empat taraf, yaitu hari ke-0, hari ke-3, hari ke-4, dan hari ke-5. Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak tiga kali ulangan. Data dianalisis menggunakan uji *Two-Way ANOVA* dan apabila terdapat pengaruh yang signifikan ($P < 0,05$), dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT).

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari 2026 sampai dengan bulan Mei 2026. Pengambilan sampel berupa limbah cair kelapa sawit (POME) dari pabrik X di Kabupaten Blitar, Jawa Timur. Tahap perlakuan, uji kadar lignin dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Program studi Biologi. Kemudian uji pengukuran dekolorisasi dilakukan di Laboratorium Instrument dan Laboratorium Biokimia, Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi gelas baeaker 100 ml, Pipet tetes, Erlenmayer, Corong kaca, Spatula, Spreader, Cawan petri, jarum ose, gelas ukur, botol gelap steril 1 liter, tabung reaksi, rak tabung, mikropipet, pipet volumetrik, blue tip, batang pengaduk, *magnetic stirrer*, *cooler box*, timbangan analitik, *Laminar Air Flow* (LAF), autoklaf sterilisasi, autoklaf destruksi, *vortex*, kapas, *plastic wrap*, inkubator, *hotplate*, corong kaca, bunsen, *hand scoon*, *alumunium foil*, pH meter, termometer, oven, kertas saring Whatman 01, *sentrifugator*, *incubator shaker*, kuvet, spektrofotometer, *tip autoclave*, kertas label, plastik tahan panas, korek api, kassa, dan tabung *sentrifuge*.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi sampel limbah cair kelapa sawit (POME) dari Pabrik X di Kabupaten Blitar, Jawa Timur. Isolat bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Kemudian aquades, alkohol 70%, agar bakto, glukosa, Yeast Extract, serbuk kraft lignin, mineral salt medium atau mineral medium Lignin (MSM/MML) dengan komposisi (per liter aquades) dengan komposisi monopotassium phosphate (KH_2PO_4), magnesium sulfat heptahidrat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), kalsium klorida dihidrat ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), tembaga sulfat pentahidrat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), dan dinatrium hidrogen phospat (Na_2HPO_4). Selain itu, Gliserol, Asam sulfat (H_2SO_4), larutan NaCl fisiologis (0,85%), HCL 0,1 %, NaOH 0,1 M, dan es batu.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Sterilisasi alat dan bahan

Sebelum memulai penelitian, seluruh alat yang akan digunakan terlebih dahulu disterilisasi. Proses sterilisasi diawali dengan mencuci alat menggunakan air mengalir, kemudian dikeringkan. Alat gelas seperti cawan petri dibungkus menggunakan kertas terlebih dahulu kemudian dimasukkan ke dalam plastik yang tahan panas. Alat gelas lainnya, seperti tabung reaksi, spatula, serta pipet tip (*blue tip*, *white tip*, *yellow tip*), dimasukkan ke dalam kantong plastik tahan panas dalam posisi terbalik (bagian mulut tabung menghadap ke bawah). Seluruh kantong plastik yang telah berisi alat kemudian diikat dengan rapat menggunakan *tip autoclave* sebagai penanda bahwa alat tersebut telah melalui proses sterilisasi. Sementara itu, alat gelas lain seperti erlenmeyer dan gelas ukur cukup ditutup menggunakan aluminium foil dan diberi penanda dengan *tip autoclave*. Kertas saring yang akan digunakan disterilisasi dengan cara dimasukkan ke dalam botol kaca (botol selai), kemudian ditutup rapat, dilapisi plastik wrap, dan diberi penanda menggunakan *tip autoclave*. Seluruh alat yang telah diberi penanda selanjutnya disterilisasi secara bersamaan menggunakan autoclave pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit. Untuk alat yang tidak tahan terhadap suhu tinggi, sterilisasi dilakukan dengan menyemprotkan alkohol 70% secukupnya.

3.4.2 Pengambilan sampel

Sampel limbah cair diperoleh dari pabrik industri kelapa sawit X yang berlokasi di Kabupaten Blitar, Jawa Timur. Sebelum proses pengambilan dilakukan, terlebih dahulu dilakukan pengukuran parameter fisik limbah berupa suhu dan pH untuk mengetahui kondisi awal sampel. Selanjutnya, sampel limbah

diambil secara aseptis dan dimasukkan ke dalam botol gelap steril berkapasitas 500 mL. Setelah pengambilan, sampel disimpan di dalam cooler box yang telah diisi es batu dengan suhu terjaga pada 4°C untuk menjaga kestabilan dan mencegah perubahan karakteristik mikrobiologis. Sampel tersebut kemudian dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang untuk dilakukan analisis lebih lanjut.

3.4.3 Pembuatan media

Media selektif yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* berupa *Mineral Salt Medium* (MSM) dalam bentuk *broth* dan agar, yang kemudian diperkaya dengan penambahan serbuk kraft lignin sebanyak 0,5 g sehingga membentuk media *Lignin-Mineral Salt Medium* (L-MSM). Komposisi L-MSM agar terdiri atas 0,4 g KH_2PO_4 , 0,01 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,05 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,002 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0,04 g Na_2HPO_4 , 3 g agar bakto, serta 1,5 g glukosa dan 1,5 g *yeast extract* yang berfungsi sebagai sumber karbon dan nitrogen bagi pertumbuhan bakteri. Seluruh bahan dicampurkan dalam gelas beaker dan ditambahkan akuades hingga mencapai volume total 200 mL. Campuran tersebut kemudian dipanaskan di atas hot plate hingga mendidih dan homogen. Selanjutnya, media dipindahkan ke dalam erlenmeyer, ditutup menggunakan kapas dan kasa yang dilapisi plastik *wrap*, kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit, kemudian media didinginkan hingga mencapai suhu 50°C (Rupaedah *et al.*, 2019). Untuk media *Lignin-Mineral Salt Medium Broth*, prosedur pembuatannya sama seperti dengan media LMSM agar, namun tanpa penambahan agar sebagai media pematat.

3.4.4 Peremajaan isolat bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Peremajaan isolat bakteri pada suatu penelitian sangatlah penting. Peremajaan ini digunakan untuk menjaga agar isolat tetap hidup dengan cara memindahkan isolat tersebut ke dalam media baru. Peremajaan dan adaptasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dilakukan dalam media *Lignin-Mineral Salt Medium* (L-MSM). Peremajaan ini dilakukan dengan cara menginokulasikan satu ose isolate murni bakteri pada media *Lignin-Mineral Salt Agar* (L-MSM) di atas cawan petri menggunakan teknik streak plate untuk mendapatkan koloni Tunggal. Proses ini dilakukan secara aseptis di dalam *laminar air flow* (LAF). Inokulum tersebut diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C. Kultur murni yang dihasilkan digunakan sebagai kultur kerja, sedangkan sebagian disimpan sebagai kultur stok (Zainith *et al.*, 2019). Tahap kedua dilanjutkan dengan menginokulasikan satu ose bakteri murni ke dalam 10 mL L-MSM *broth* dan diinkubasi dalam kondisi yang sama. Koloni bakteri tunggal yang diperoleh akan digunakan untuk pembuatan inoculum

3.4.5 Proses degradasi lignin

Pembuatan inokulum dilakukan dengan mengacu pada metode yang dijelaskan oleh Ahmed *et al.* (2016) dengan beberapa modifikasi. Sebanyak 2,5 ml kultur *Pseudomonas aeruginosa* hasil inkubasi diambil dari tabung reaksi, kemudian dimasukkan ke dalam 250 ml media L-MSM *broth* yang telah disterilkan. Proses inokulasi dilakukan secara aseptis di bawah *Laminar Air Flow* (LAF) untuk mencegah terjadinya kontaminasi. Media yang telah diinokulasikan kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam.

Limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME) diformulasikan sebagai media degradasi lignin dengan penambahan 0,8 gram gliserol dan 0,5 gram yeast extract

untuk setiap 100 mL POME. Penambahan ini digunakan sebagai sumber nutrisi tambahan untuk meningkatkan ketersediaan karbon dan nitrogen bagi mikroorganisme. Media yang telah diperkaya tersebut selanjutnya disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 atm selama 20 menit untuk memastikan kondisi bebas kontaminan sebelum digunakan dalam proses penelitian (Ganapathy *et al.*, 2019).

Setiap reaktor uji degradasi lignin memiliki volume total 100 ml dengan komposisi yang disesuaikan berdasarkan variasi konsentrasi. Sebagai contoh, pada konsentrasi inokulum 5%, komposisi terdiri atas 15 ml limbah *Palm Oil Mill Effluent*(POME) yang telah diperkaya, 5 ml larutan gliserol dan yeast extract, 5 ml inokulum *Pseudomonas aeruginosa*, dan 75 ml aquades steril sehingga total volume mencapai 100 ml. Pada perlakuan kontrol (0% tanpa penambahan inokulum), volume inokulum digantikan seluruhnya oleh aquades steril. Seluruh konsentrasi lainnya mengikuti proporsi yang sama sebagaimana tercantum pada tabel 3.3

Tabel 3.3 Komposisi reaktor uji degradasi lignin per Konsentrasi Inokulum (Total volume 100 ml)

Konsentrasi Inokulum (%)	Volume limbah POME (mL)	Volume Gliserol + Yeast Extract (mL)	Volume inokulum (mL)	Volume Aquades (mL)
0%	15	5	0	80
5%	15	5	5	75
10%	15	5	10	70
15%	15	5	15	65
20%	15	5	20	60
25%	15	5	25	55
30%	15	5	30	50

Inokulum *Pseudomonas aeruginosa* diperoleh dari kultur hasil inkubasi selama 24 jam pada media L-MSM broth pada suhu 35°C. Perlakuan variasi inokulum dilakukan dengan menambahkan masing-masing sebanyak 0%, 5%,

10%, 15%, 20%, 25%, dan 30% (v/v) ke dalam media limbah cair kelapa sawit (POME) yang telah diperkaya dan disterilisasi.

Proses inokulasi dilakukan secara aseptis di bawah *Laminar Air Flow* (LAF) untuk mencegah terjadinya kontaminasi. Setelah inokulasi, reaktor yang berisi media POME diinkubasi pada suhu 35°C selama 168 jam (7 hari) dengan pengadukan ringan (100–150 rpm) untuk menjaga homogenitas dan mempertahankan kondisi aerob melalui aerasi minimal. Durasi inkubasi 7 hari mengacu pada Soleimaninanadegani & Manshad (2014) yang menunjukkan bahwa biodegradasi bakteri *indigenous* POME termasuk *Pseudomonas* sp. mencapai penurunan senyawa organik secara optimal dalam 7 hari dalam kondisi aerob, sedangkan suhu inkubasi 35°C ditetapkan berdasarkan kondisi pertumbuhan optimal *Pseudomonas aeruginosa* sebagaimana dilaporkan oleh Usman & Dabai (2021). Parameter yang diukur meliputi kadar lignin yang dianalisis dengan metode klason untuk mengetahui penurunan konsentrasi lignin atau senyawa aromatik akibat proses biodegradasi (Ganapathy *et al.*, 2019).

Metode Klason dilakukan dengan langkah pertama mengeringkan 250 mL limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME) di dalam oven hingga diperoleh sampel padatan sebanyak 1 gram. Pada metode Klason, proses hidrolisis asam dua tahap bertujuan untuk melarutkan dan memisahkan komponen karbohidrat, yaitu selulosa dan hemiselulosa, dari sampel biomassa sehingga lignin yang bersifat tahan asam (*acid-insoluble*) dapat dipisahkan dan diukur secara gravimetri. Tanpa proses hidrolisis, komponen karbohidrat dapat tetap bercampur dengan lignin pada residu sehingga menyebabkan overestimasi kadar lignin. Hidrolisis dua tahap dilakukan karena selulosa memerlukan konsentrasi asam yang berbeda agar terhidrolisis

secara sempurna, yaitu menggunakan H_2SO_4 72% pada suhu rendah untuk melarutkan selulosa kristalin, kemudian diencerkan menjadi 3% disertai pemanasan untuk menghidrolisis karbohidrat menjadi gula monomer yang larut (Lamtia *et al.*, 2015).

Sampel padatan kering POME sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam gelas piala berkapasitas 250 mL, kemudian ditambahkan 25 mL H_2SO_4 72% pada suhu $20 \pm 2^\circ\text{C}$ dan diaduk selama 2–3 menit hingga seluruh bagian sampel terdispersi dengan baik. Gelas piala kemudian ditutup menggunakan kaca arloji dan didiamkan selama 2 jam sambil sesekali diaduk. Setelah hidrolisis tahap pertama selesai, sampel dipindahkan secara kuantitatif ke dalam Erlenmeyer 1000 mL, lalu ditambahkan 300 mL aquades dan air hingga volume total mencapai 575 mL sehingga konsentrasi H_2SO_4 menjadi 3%. Campuran kemudian dipanaskan hingga mendidih selama 4 jam menggunakan pendingin balik (reflux condenser). Setelah itu, larutan didinginkan pada suhu ruang hingga terbentuk endapan lignin secara sempurna. Endapan lignin disaring menggunakan kertas saring yang telah diketahui berat awalnya, dicuci dengan air panas hingga bebas dari sisa asam yang ditandai dengan uji kertas lakmus, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu $105 \pm 5^\circ\text{C}$ hingga mencapai berat konstan. Berat lignin kering yang diperoleh digunakan sebagai dasar perhitungan kadar lignin metode Klason. Rumus perhitungan kadar lignin dengan metode klason (Lamtia *et al.*, 2015):

$$\text{Kadar Lignin (\%)}: \frac{\text{Berat endapan lignin}}{\text{berat pulp kering}} \times 100\%$$

Persentase degradasi lignin selanjutnya dihitung menggunakan rumus (Wu *et al.*, 2017):

$$\% \text{ Degradasi Lignin}: \frac{L_{\text{awal}} - L_{\text{akhir}}}{L_{\text{awal}}} \times 100\%$$

Keterangan: L awal = Lignin sebelum perlakuan; L akhir = kadar lignin setelah di inkubasi.

3.4.6 Proses dekolorisasi limbah

Pembuatan inokulum dilakukan dengan menggunakan konsentrasi inokulum terbaik yang sebelumnya diperoleh dari hasil uji degradasi lignin. Penetapan konsentrasi optimal ini dimaksudkan untuk menjamin bahwa inokulum yang digunakan memiliki aktivitas biodegradasi paling efektif, sehingga mampu memberikan kinerja yang lebih maksimal pada proses dekolorisasi limbah POME. Kultur *Pseudomonas aeruginosa* sebagai agen biodegradasi terlebih dahulu dikultivasi hingga mencapai fase pertumbuhan eksponensial, karena pada fase ini sel bakteri berada pada tingkat aktivitas metabolik tertinggi dan dinilai paling sesuai untuk proses biodegradasi. Inokulum yang telah mencapai kondisi tersebut kemudian disiapkan secara aseptik dan disesuaikan dengan konsentrasi yang telah ditentukan untuk digunakan pada tahap reaksi dekolorisasi (Putri & Febria, 2023).

Penentuan waktu panen inokulum dilakukan melalui pembuatan kurva pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* yang berguna untuk mengidentifikasi waktu pencapaian fase eksponensial. Proses pembuatan kurva pertumbuhan mengacu pada Wepukhulu *et al.* (2024), yaitu Inokulum bakteri diinokulasikan kedalam media L-MSM (*Lignin Mineral Salt Medium*) dengan konsentrasi inokulum 5% (v/v) dan diinkubasi pada suhu 35°C dengan agitasi 100 rpm selama 24 jam. Kepadatan sel dipantau setiap 3 jam, di mana kepadatan sel diukur menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada Panjang gelombang 600 nm (OD₆₀₀) dengan media L-MSM steril tanpa inokulum sebagai blanko. Data diambil dan diperoleh pada jam ke-0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, dan 24 sehingga mencukupi untuk

mengidentifikasi seluruh fase pertumbuhan, melalui inspeksi visual terhadap titik data yang tersedia (Smug *et al.*, 2024). Kurva pertumbuhan dibuat berdasarkan data OD₆₀₀ untuk menentukan fase lag, eksponensial, stasioner, dan kematian sebagai acuan waktu panen inokulum.

Setiap reaktor uji dekolorisasi memiliki volume total 50 ml dengan konsentrasi inokulum optimal hasil uji degradasi lignin (5% v/v = 2,5 ml). Perlakuan kontrol (0% POME) terdiri atas 47,5 mL aquades steril dan 2,5 mL inokulum tanpa penambahan limbah POME. Sebagai contoh perlakuan, pada tingkat pengenceran 25%, komposisi terdiri atas 12,5 mL POME, 35 mL aquades steril, dan 2,5 ml inokulum. Pada tingkat pengenceran 100%, seluruh volume cairan merupakan limbah POME (47,5 mL) tanpa penambahan aquades, ditambahkan 2,5 mL inokulum. Seluruh tingkat pengenceran lainnya mengikuti proporsi sebagaimana tercantum pada tabel 3.4

Tabel 3.4 Komposisi reaktor uji dekolorisasi per Tingkat pengenceran (Total volume 50 ml, inokulum 5%)

Tingkat pengenceran (%)	Volume limbah POME (mL)	Volume Aquades (mL)	Volume inokulum (mL)
0% (Kontrol)	0	47,5	2,5
25%	12,5	35	2,5
50%	25	22,5	2,5
75%	37,5	10	2,5
100%	47,5	0	2,5

Uji dekolorisasi dilakukan menggunakan metode spektrofotometer untuk mengevaluasi efektivitas *Pseudomonas aeruginosa* dalam menurunkan intensitas warna pada limbah POME. Proses reaksi dilakukan di dalam Erlenmeyer steril berkapasitas 250 mL. Campuran digoyangkan secara perlahan hingga tercampur homogen, kemudian ditutup menggunakan aluminium foil steril. Selanjutnya,

Erlenmeyer diinkubasi pada inkubator shaker dengan suhu 32–35 °C dan kecepatan 130 rpm untuk menciptakan kondisi aerob yang stabil. Durasi inkubasi ditetapkan selama 5 hari mengacu pada Bala *et al.* (2014) yang menunjukkan bahwa dekolorisasi menggunakan bakteri *indigenous* pada limbah POME mencapai hasil optimal dalam 5 hari pada kondisi aerob. Pengaturan suhu dan agitasi mengacu pada metode Abdulsalam *et al.* (2020), yang menekankan bahwa aerasi serta agitasi yang konsisten sangat penting dalam menunjang aktivitas metabolik bakteri selama proses dekolorisasi. Sampel kemudian di sentrifugasi pada 5.000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan biomassa bakteri dari supernatan. Supernatan jernih yang dihasilkan digunakan sebagai sampel uji untuk pengukuran nilai Absorbansi, yang menjadi parameter utama dalam menentukan tingkat dekolorisasi POME.

Supernatan yang diperoleh dimasukkan ke dalam kuvet hingga $\frac{3}{4}$ volume kuvet terisi. Spektrofotometer di setting menggunakan aquades steril sebagai blanko untuk memastikan akurasi pembacaan. Supernatan yang diperoleh kemudian dianalisis dengan mengukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang $\lambda 400$ nm untuk menentukan persentase penurunan intensitas warna limbah (Abdulsalam *et al.*, 2020) Persentase penurunan warna limbah dihitung dengan rumus berikut (Putri & Febria, 2023) :

$$\% \text{ Dekolorisasi: } \frac{(\text{Absorbansi Awal} - \text{Absorbansi Akhir})}{\text{Absorbansi Awal}} \times 100$$

3.5 Analisis data

Data hasil penelitian degradasi lignin dan dekolorisasi disajikan dalam bentuk diagram batang secara deskriptif kuantitatif. Analisis statistik dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS. Data degradasi lignin dianalisis menggunakan *One-Way* ANOVA dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan

tiga kali ulangan pada setiap perlakuan. Apabila hasil ANOVA menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$), dilanjutkan uji lanjut *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan secara spesifik. Data dekolonisasi dianalisis menggunakan uji Two-Way ANOVA dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial dengan dua faktor perlakuan (tingkat pengenceran dan waktu inkubasi), masing-masing tiga ulangan. Apabila hasil ANOVA menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$), dilanjutkan uji lanjut *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) untuk mengetahui interaksi dan perbedaan antar perlakuan secara spesifik.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Degradasi Lignin pada Limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME) oleh

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar lignin awal limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME) sebelum perlakuan terdeteksi sebesar 80,49% dari total padatan kering. Nilai ini tergolong tinggi dibandingkan laporan Meena *et al.* (2023) yang menyebutkan bahwa kandungan lignin pada limbah POME sebesar 4.700 mg/L atau setara dengan $\pm 0,47\%$ dari total volume cairan. Perbedaan ini disebabkan oleh perbedaan basis pengukuran. Penelitian ini menggunakan metode Klason untuk mengukur lignin dari fraksi padatan kering, sedangkan Meena *et al.* (2023) mengukur dari total volume cairan POME yang mengandung sekitar 95-96% air (Bala *et al.*, 2014). Dengan demikian, nilai 80,49% (Lampiran 1) mencerminkan dominasi lignin pada komponen padatan POME, bukan pada keseluruhan volume limbah cairnya. Tingginya kadar lignin ini mengindikasikan bahwa limbah POME memerlukan penanganan biologis yang efektif untuk mendegradasi kandungan ligninnya sebelum dapat dibuang ke lingkungan (Grgas *et al.*, 2023).

Hasil uji *One Way* ANOVA menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$), sehingga H_0 ditolak dan H_1 diterima. Hal ini menunjukkan bahwa variasi konsentrasi inokulum *Pseudomonas aeruginosa* berpengaruh nyata terhadap persentase degradasi lignin limbah POME. Dengan ditolaknya H_0 , dapat disimpulkan bahwa paling sedikit terdapat satu konsentrasi inokulum yang menghasilkan persentase degradasi lignin berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan lainnya, sehingga dilanjutkan dengan uji lanjut *Duncan's Multiple Range*

Test (DMRT) untuk mengetahui perbedaan nyata antarperlakuan secara spesifik (Lampiran 5). Rata-rata persentase degradasi lignin pada masing-masing konsentrasi inokulum disajikan pada Tabel 4.1

Tabel 4.1 Rata-rata persentase degradasi lignin limbah POME oleh *Pseudomonas aeruginosa* pada berbagai konsentrasi inokulum hari ke-7

Konsentrasi Inokulum (%)	Kadar Lignin Awal (%)	Rata-rata kadar Lignin Tersisa (%)	Rata-rata Degradasi Lignin (%)
0	80,49	72,65	8,00 ± 2,00 ^b
5	80,49	68,63	14,67 ± 4,04 ^c
10	80,49	70,54	12,00 ± 1,00 ^c
15	80,49	73,73	8,33 ± 1,53 ^b
20	80,49	75,44	6,33 ± 1,53 ^b
25	80,49	76,82	4,67 ± 0,58 ^{ab}
30	80,49	79,01	2,00 ± 1,00 ^a

Keterangan: Huruf yang berbeda pada kolom notasi DMRT menunjukkan perbedaan nyata antar perlakuan ($p < 0,05$)

Berdasarkan Tabel 4.1, konsentrasi inokulum 5% menghasilkan persentase degradasi lignin tertinggi sebesar $14,67 \pm 4,04\%$ dengan kadar lignin tersisa 68,53%, sedangkan konsentrasi 30% menghasilkan degradasi terendah sebesar $2,00 \pm 1,00$ dengan kadar lignin tersisa 79,01% (Lampiran 3). Pola degradasi membentuk kurva yang meningkat dari konsentrasi 0% menuju puncak pada konsentrasi 5%, kemudian menurun secara konsisten hingga konsentrasi 30%, sehingga konsentrasi inokulum 5% ditetapkan sebagai konsentrasi optimum dalam penelitian ini. Perlakuan kontrol tanpa penambahan inokulum (0%) menunjukkan degradasi sebesar $8,00 \pm 2,00 \%$ yang disebabkan oleh dua faktor yaitu proses hidrolisis kimiawi alami yang berlangsung selama masa inkubasi 7 hari pada suhu 35°C, serta kemungkinan masih adanya aktivitas mikroorganisme *indigenous* yang bertahan setelah proses sterilisasi (Soleimaninanadegani & Manshad, 2014).

Hasil uji lanjut *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada Tabel 4.1 menunjukkan adanya perbedaan nyata antar kelompok perlakuan yang ditandai oleh perbedaan notasi huruf. Konsentrasi inokulum 5% dan 10% berada pada notasi huruf c, notasi tertinggi dalam penelitian ini yang berarti keduanya tidak berbeda nyata secara statistik. Namun, secara numerik nilai degradasi konsentrasi 5% (14,67%) lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi 10% (12,00%). Oleh karena itu, konsentrasi 5% dipilih sebagai perlakuan terbaik karena mampu menghasilkan degradasi yang lebih tinggi dengan penggunaan inokulum yang efisien. Pada konsentrasi inokulum 10% tidak ada peningkatan kemampuan degradasi, hal ini mengindikasikan bahwa konsentrasi 5% telah mencapai kondisi optimum bagi aktivitas bakteri dalam mendegradasi lignin. Kondisi ini menunjukkan bahwa peningkatan jumlah inokulum tidak selalu diikuti oleh peningkatan efisiensi biodegradasi karena setiap sistem memiliki konsentrasi inokulum optimum yang dipengaruhi oleh keseimbangan antara jumlah mikroorganisme dan ketersediaan substrat. Pada konsentrasi yang lebih tinggi, peningkatan kepadatan sel dapat mengurangi efektivitas proses biodegradasi sehingga kemampuan degradasi tidak mengalami peningkatan meskipun jumlah inokulum ditambah (Koffi *et al.*, 2023).

Hasil pengelompokan uji DMRT juga menunjukkan adanya pola penurunan kemampuan degradasi seiring peningkatan konsentrasi inokulum di atas kondisi optimum. Konsentrasi 0%, 15%, dan 20% berada pada notasi huruf b, yang berarti ketiga perlakuan tersebut tidak berbeda nyata satu sama lain, namun berbeda nyata dengan kelompok c. Konsentrasi 25% berada pada notasi ab, yaitu posisi transisi yang tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 30% (notasi a) maupun kelompok b,

namun berbeda nyata dengan kelompok c. Konsentrasi 30% berada pada notasi a, notasi terendah dan berbeda nyata dengan seluruh perlakuan lainnya kecuali konsentrasi 25%. Pola pengelompokan ini mengindikasikan bahwa peningkatan konsentrasi inokulum di atas 10% cenderung diikuti oleh penurunan kemampuan degradasi lignin, yang terlihat dari pergeseran kelompok perlakuan dari notasi c menuju notasi a. Dengan demikian, hasil uji DMRT mempertegas bahwa konsentrasi inokulum 5% merupakan perlakuan paling efektif atau memberikan hasil terbaik dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Lebih lanjut, penambahan konsentrasi inokulum melebihi titik optimum tersebut tidak mampu meningkatkan kemampuan degradasi, bahkan sebaliknya menyebabkan penurunan efektivitas yang signifikan dan berlangsung secara bertahap seiring dengan meningkatnya konsentrasi.

Tingginya persentase degradasi lignin pada konsentrasi inokulum 5% dalam mendegradasi lignin disebabkan oleh kondisi keseimbangan optimal antara jumlah sel bakteri dan ketersediaan substrat dalam media POME. Pada konsentrasi tersebut, setiap sel *Pseudomonas aeruginosa* memperoleh pasokan oksigen, nutrisi, dan substrat lignin yang mencukupi untuk mendukung aktivitas metabolik dan produksi enzim ligninolitik secara optimal, meliputi lignin peroksidase (LiP), mangan peroksidase (MnP), lakase, dan *dye-decolorizing peroxidase* (DyP) (Soleimaninanadegani & Manshad, 2014). Enzim-enzim tersebut bekerja secara sinergis menguraikan struktur aromatik lignin menjadi senyawa intermediat seperti asam siringat, asam vanilat, dan asam protokatekuat yang selanjutnya masuk ke dalam siklus TCA sebagai produk akhir metabolisme. Hal ini sejalan dengan pernyataan Ru *et al.* (2025) bahwa *Pseudomonas* merupakan genus dominan dalam

proses degradasi lignin karena memiliki kemampuan metabolik yang beragam (*Metabolic multifunction*), termasuk kemampuan tumbuh dengan memanfaatkan lignin dan turunannya sebagai satu-satunya sumber karbon melalui jalur β -ketoadipat.

Persentase degradasi lignin sebesar 14,67% yang diperoleh dalam penelitian ini masih berada dalam rentang kemampuan degradasi bakteri ligninolitik secara umum. Berdasarkan tinjauan Grgas *et al.* (2023) terhadap berbagai penelitian mengenai bakteri ligninolitik, tingkat degradasi lignin oleh bakteri menunjukkan rentang yang sangat luas, yaitu antara 10–98%, yang dipengaruhi oleh jenis isolat, kondisi inkubasi, jenis substrat, serta tingkat kemurnian lignin yang digunakan. Persentase degradasi yang mendekati 98% umumnya dicapai pada penelitian yang menggunakan substrat lignin murni, seperti kraft lignin atau lignin hasil isolasi, dalam kondisi optimum yang terkontrol. Sebaliknya, nilai degradasi yang lebih rendah, yakni sekitar 10–30%, umumnya ditemukan pada penelitian yang menggunakan substrat limbah kompleks atau kondisi eksperimen yang belum sepenuhnya optimal. Oleh karena itu, nilai degradasi lignin sebesar 14,67% dalam penelitian ini masih dapat dikategorikan valid menurut Grgas *et al.* (2023), khususnya pada sistem yang menggunakan substrat limbah nyata (*real wastewater*).

Nilai tersebut masih tergolong rendah dibandingkan hasil penelitian Usman & Dabai (2021), yang melaporkan kemampuan degradasi lignin hingga 82% oleh *Pseudomonas aeruginosa* yang diisolasi dari *Kware Lake* menggunakan substrat lignin murni pada suhu 35°C. Nilai tersebut juga lebih rendah dibandingkan hasil penelitian Yang *et al.* (2018), yang melaporkan degradasi lignin sebesar 25% oleh *Pseudomonas* sp. Q.18 pada substrat switchgrass. Perbedaan hasil tersebut diduga

berkaitan erat dengan karakteristik substrat yang digunakan. Pada penelitian Usman & Dabai (2021) serta Yang *et al.* (2018), substrat lignin yang digunakan telah melalui proses isolasi dan pemurnian sehingga lebih mudah diakses oleh enzim ligninolitik. Sebaliknya, lignin dalam penelitian ini masih berada dalam matriks limbah kompleks berupa POME.

Limbah POME yang digunakan merupakan limbah asli tanpa proses pemurnian dan masih mengandung berbagai senyawa organik, seperti minyak, tanin, senyawa fenolik, serta melanoidin, dengan kadar lignin awal yang relatif tinggi, yaitu sebesar 80,49%. Kondisi tersebut menyebabkan aksesibilitas enzim terhadap substrat lignin menjadi lebih terbatas, sehingga memengaruhi efisiensi degradasi yang dihasilkan (Grgas *et al.*, 2023). Rendahnya efisiensi degradasi lignin diduga dipengaruhi oleh kompleksitas matriks POME yang masih mengandung senyawa organik kompleks, seperti melanoidin, tanin, senyawa fenolik (± 5.800 mg/L), minyak dan lemak, serta pektin (Meena *et al.*, 2023). Senyawa-senyawa tersebut dapat berfungsi sebagai sumber karbon alternatif yang lebih mudah dimanfaatkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* dibandingkan lignin yang memiliki struktur aromatik kompleks dan lebih resisten terhadap degradasi (Bala *et al.*, 2014). Selain itu, senyawa fenolik polimer dan melanoidin juga berpotensi bertindak sebagai inhibitor yang dapat menurunkan aktivitas enzim ligninolitik melalui kompetisi terhadap substrat maupun modifikasi pada situs aktif enzim (Kumar & Chandra, 2020).

Faktor lain yang turut memengaruhi adalah tingginya kadar lignin awal, yang memungkinkan terjadinya akumulasi produk intermediat hasil degradasi parsial lignin, seperti senyawa fenolik dan aldehida aromatik. Akumulasi senyawa

tersebut dapat menyebabkan *product inhibition* yang menghambat proses degradasi lanjutan. Kondisi inkubasi juga berperan dalam menentukan efisiensi biodegradasi, terutama suhu dan homogenisasi. Suhu inkubasi 35°C yang digunakan memang merupakan suhu optimum pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* (Iglewski, 1991), namun suhu optimum pertumbuhan sel belum tentu sama dengan suhu optimum aktivitas enzim ligninolitik seperti lignin peroksidase (LiP), mangan peroksidase (MnP), dan lakase. Kecepatan agitasi sebesar 100–150 rpm bertujuan untuk mempertahankan kondisi aerob dan mendistribusikan bakteri secara merata dalam media, tetapi agitasi yang kurang optimal dapat menurunkan efisiensi transfer massa antara substrat lignin dan sel bakteri.

Rendahnya efisiensi degradasi lignin pada penelitian ini juga dapat dipengaruhi oleh tidak dilakukannya tahap *pretreatment* yang secara khusus bertujuan mengurangi senyawa penghambat sebelum proses biodegradasi dimulai, sehingga senyawa organik kompleks yang terkandung dalam POME seperti melanoidin, senyawa fenolik, dan tanin masih berada dalam konsentrasi tinggi di dalam media dan berpotensi menghambat aktivitas enzim ligninolitik *Pseudomonas aeruginosa* (Kumar & Chandra, 2020). Idealnya, untuk memaksimalkan efisiensi degradasi lignin secara biologis, diperlukan tahapan pretreatment sebelum proses biodegradasi dimulai, seperti koagulasi-flokulasi untuk mengendapkan partikel tersuspensi dan mengurangi turbiditas yang dapat menghalangi aktivitas enzimatik (Justman *et al.*, 2019), adsorpsi menggunakan karbon aktif atau zeolit untuk mengurangi kadar senyawa fenolik dan melanoidin yang bersifat inhibitor (Grgas *et al.*, 2023), serta pretreatment fisik seperti ultrasonikasi untuk meningkatkan aksesibilitas lignin terhadap enzim (Yadav *et al.*, 2022). Penerapan tahapan

pretreatment tersebut diharapkan dapat meningkatkan persentase degradasi lignin secara signifikan pada penelitian selanjutnya.

Rendahnya efisiensi degradasi lignin pada penelitian ini juga dapat disebabkan oleh kompleksitas matriks POME sebagai substrat nyata dibandingkan substrat lignin murni yang digunakan pada penelitian-penelitian terdahulu (Grgas *et al.*, 2023). Namun, persentase degradasi lignin yang diperoleh dalam penelitian ini lebih merepresentasikan kondisi nyata pengolahan POME secara biologis menggunakan isolat *Pseudomonas aeruginosa indigenus* yang diisolasi langsung dari limbah tanpa modifikasi maupun penambahan substrat tambahan, sekaligus memberikan dasar yang relevan bagi penelitian lanjutan dengan optimasi kondisi yang lebih komprehensif (Usman & Dabai, 2021).

Peningkatan konsentrasi inokulum di atas 5% yaitu konsentrasi 10%, 15%, 20%, 25%, dan 30% menunjukkan penurunan efektivitas degradasi lignin secara konsisten hingga mencapai nilai terendah pada konsentrasi 30% sebesar $2,00 \pm 1,00\%$. Berdasarkan notasi DMRT, perlakuan konsentrasi 25% (notasi ab) dan 30% (notasi a) berbeda nyata dengan kelompok optimum konsentrasi 5% dan 10% (notasi c), yang mengindikasikan bahwa kelebihan konsentrasi inokulum berkontribusi terhadap penurunan laju degradasi secara signifikan. Fenomena ini dapat dijelaskan melalui tiga mekanisme utama. Pertama, mekanisme *cell density inhibition* (inhibisi kepadatan sel) yang terjadi ketika jumlah sel bakteri melebihi kapasitas optimal media, sehingga memicu kompetisi antar sel dalam memperoleh substrat lignin, oksigen terlarut, serta nutrisi. Kondisi ini menyebabkan ketersediaan sumber daya bagi masing-masing sel menjadi terbatas, sehingga energi sel cenderung dialokasikan untuk mempertahankan hidup dibandingkan

untuk sintesis enzim ligninolitik yang berperan dalam proses biodegradasi lignin (Kabede *et al.*, 2021). Kedua, terjadi akumulasi metabolit antara yang bersifat inhibitori (*product inhibition*), di mana peningkatan kepadatan sel mengakibatkan bertambahnya senyawa fenolik dan aldehida aromatik hasil degradasi parsial lignin yang terakumulasi dalam media. Senyawa-senyawa tersebut bersifat toksik terhadap sel dan dapat menghambat aktivitas enzimatik lanjutan (Xu *et al.*, 2018).

Ketiga, peningkatan konsentrasi inokulum yang terlalu tinggi dapat mengurangi ketersediaan oksigen dalam media dan mengubah kondisi aerob menjadi cenderung ke arah metabolisme anaerobik, yang pada akhirnya dapat menurunkan efisiensi biodegradasi secara keseluruhan (Soleimaninanadegani & Manshad, 2014). Kondisi tersebut menyebabkan energi sel lebih banyak digunakan untuk bertahan hidup dalam kondisi kompetitif daripada untuk memproduksi enzim ligninolitik yang diperlukan dalam proses biodegradasi lignin (Grgas *et al.*, 2023).

Dengan demikian, persentase degradasi lignin yang diperoleh dalam penelitian ini memang relatif lebih rendah, namun hasil tersebut lebih merepresentasikan kondisi nyata pengolahan POME secara biologis menggunakan isolat *Pseudomonas aeruginosa indigenous* yang diisolasi langsung dari limbah tanpa modifikasi maupun penambahan substrat tambahan. Hasil ini juga memberikan dasar yang relevan bagi penelitian lanjutan melalui optimasi kondisi yang lebih komprehensif.

4.2 Dekolorisasi Limbah *Palm Oil Mill Effluent*(POME) oleh Bakteri

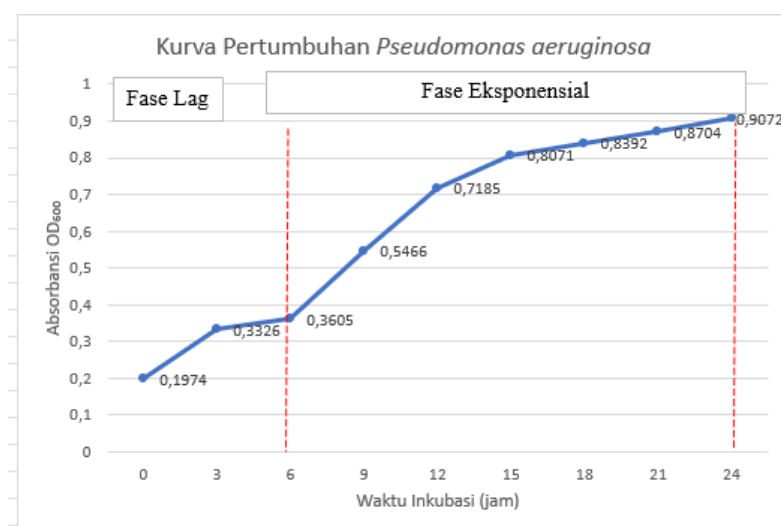
Pseudomonas aeruginosa

Limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME) memiliki warna coklat kehitaman yang pekat akibat kandungan senyawa organik kompleks seperti lignin, tanin,

melanoidin, karotenoid, dan senyawa fenolik yang dihasilkan selama pengolahan tandan buah segar kelapa sawit (Meena *et al.*, 2023). Tingginya intensitas warna pada POME tidak hanya menimbulkan masalah estetika tetapi juga dapat menghambat penetrasi cahaya matahari ke dalam badan air sehingga mengganggu proses fotosintesis ekosistem akuatik (Neoh *et al.*, 2014). Oleh karena itu, proses dekolorisasi merupakan salah satu parameter penting dalam pengolahan limbah POME sebelum dibuang ke lingkungan. Berdasarkan hasil uji degradasi lignin pada subbab 4.1 yang menunjukkan konsentrasi inokulum optimum sebesar 5% (v/v), maka konsentrasi tersebut digunakan sebagai konsentrasi kerja pada uji dekolorisasi warna POME. Sebelum diaplikasikan, inokulum *Pseudomonas aeruginosa* terlebih dahulu diinkubasi hingga mencapai fase eksponensial yang ditentukan berdasarkan kurva pertumbuhan bakteri sebagaimana disajikan pada Gambar 4.1.

Berdasarkan Gambar 4.1, kurva pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* pada media LMSM cair menunjukkan dua fase pertumbuhan selama 24 jam pengamatan. Pada jam ke-0 hingga jam ke-6, nilai OD₆₀₀ berada pada rentang 0,1974–0,3605 dengan laju peningkatan yang relatif lambat, yang mengindikasikan bahwa bakteri masih berada dalam fase lag yaitu fase adaptasi terhadap kondisi lingkungan dan komposisi nutrisi media LMSM sebelum memulai pembelahan sel secara aktif (Smug *et al.*, 2023). Peningkatan nilai OD yang signifikan mulai terlihat pada jam ke-6 (OD = 0,3605) dan terus meningkat hingga jam ke-24 (OD = 0,9072), yang menandakan bahwa bakteri telah memasuki fase eksponensial dan masih berada dalam fase tersebut hingga akhir pengamatan. Fase stasioner belum teramati dalam rentang 24 jam karena ketersediaan nutrisi dalam media LMSM masih mencukupi untuk mendukung pertumbuhan aktif *Pseudomonas aeruginosa*.

(Wepukhulu *et al.*, 2024). Tujuan utama pembuatan kurva pertumbuhan dalam penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi rentang fase eksponensial sebagai acuan waktu panen inokulum. Berdasarkan data tersebut, inokulum dipanen pada jam ke-6 hingga ke 12 yang merupakan bagian awal fase eksponensial dimana laju pembelahan sel paling tinggi dan viabilitas sel berada pada kondisi optimal. Pemanenan pada awal fase eksponensial memastikan bahwa sel yang diinokulasikan ke media POME berada dalam kondisi paling aktif secara metabolisme, sehingga dapat segera memproduksi enzim ligninolitik seperti DyP-type peroxidase, lignin peroksidase, dan lakase secara optimal selama masa inkubasi dekolorisasi berlangsung (Yang *et al.*, 2018).



Gambar 4.1 Kurva pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* pada media LSM cair berdasarkan nilai absorbansi OD₆₀₀ selama 24 jam inkubasi.

Pengukuran dekolorisasi warna pada penelitian ini dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 400nm dengan mengacu pada nilai absorbansi sebagai parameter intensitas warna. Sebelum pengukuran, sampel POME diencerkan terlebih dahulu menggunakan aquades dengan variasi tingkat pengenceran sebesar 25%, 50%, 75%, dan 100% serta 0%

yang dijadikan sebagai kontrol (tanpa penambahan POME). Pengenceran dilakukan karena POME memiliki intensitas warna yang pekat sehingga nilai absorbansinya melebihi pembacaan spektrofotometer yang dapat menyebabkan hasil pengukuran tidak akurat (Abdulsalam *et al.*, 2020).

Perlakuan kontrol (0%) menggunakan aquades tanpa penambahan POME dengan konsentrasi *inokulum Pseudomonas aeruginosa* 5% digunakan sebagai pembanding dan disertakan untuk memastikan bahwa perubahan nilai absorbansi yang terukur pada perlakuan 25-100% benar-benar disebabkan oleh aktivitas enzimatis *Pseudomonas aeruginosa* dalam mendegradasi senyawa kromofor POME, bukan akibat dari kontribusi absorbansi dari sel bakteri itu sendiri. Hasil pengukuran pada perlakuan kontrol menunjukkan nilai absorbansi yang berbeda nyata dan jauh lebih rendah dibandingkan seluruh perlakuan dengan penambahan POME (Lampiran 7), yang mengkonfirmasi bahwa sel bakteri tidak memberikan kontribusi absorbansi yang signifikan pada Panjang gelombang 400 nm sehingga seluruh penurunan absorbansi pada perlakuan 25-100% dapat didistribusikan sepenuhnya kepada aktivitas degradasi senyawa kromofor POME oleh *Pseudomonas aeruginosa* (Abdulsalam *et al.*, 2020). Absorbansi pada hari ke-0 digunakan sebagai nilai absorbansi awal (A_0) sebagai acuan perhitungan persentase dekolorisasi pada hari ke-3, ke-4, dan ke-5. Pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 400 nm dipilih karena senyawa penyebab warna pada POME, khususnya melanoidin dan senyawa aromatik turunan lignin, memiliki absorpsi maksimum pada kisaran Panjang gelombang Cahaya tampak tersebut (Abdulsalam *et al.*, 2020).

Hasil uji *Two-Way* ANOVA menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$), yang bermakna bahwa H_0 ditolak dan H_1 diterima, sehingga terdapat pengaruh nyata dari faktor tingkat pengenceran maupun waktu inkubasi beserta interaksinya terhadap persentase dekolorisasi limbah POME. Oleh karena itu, dilanjutkan dengan uji lanjut *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) untuk mengetahui perbedaan nyata antar perlakuan secara spesifik (Lampiran 9). Rata-rata persentase dekolorisasi POME pada masing-masing perlakuan disajikan pada Tabel 4.2 dan Gambar 4.3

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa data dekolorisasi tidak memenuhi asumsi distribusi normal ($p < 0,05$). Namun, analisis data tetap dilakukan menggunakan *Two-Way* ANOVA karena penelitian ini menerapkan desain yang seimbang (*balanced design*), di mana setiap kombinasi perlakuan memiliki jumlah ulangan yang sama ($n = 3$). Penggunaan ANOVA dalam kondisi tersebut masih dapat diterima karena uji F diketahui memiliki ketahanan (*robustness*) yang baik terhadap pelanggaran asumsi normalitas, terutama pada desain ukuran sampel yang seragam antar kelompok perlakuan (Blanca *et al.*, 2017). Selain itu, Larson (2008) menjelaskan bahwa ANOVA relatif tidak sensitive terhadap penyimpangan normalitas yang bersifat moderat, khususnya pada rancangan percobaan yang seimbang. Oleh karena itu, penerapan *Two-Way* ANOVA pada penelitian ini tetap dianggap valid dan dapat dipertanggungjawabkan secara statistik

Tabel 4.2 Rata-rata persentase dekolorisasi limbah POME oleh *Pseudomonas aeruginosa* pada berbagai tingkat pengenceran dan waktu inkubasi

Tingkat Pengenceran	Hari ke-0 (Awal)		Hari ke-3 (Eksponensial)		Hari ke-4 (Stasioner)		Hari ke-5 (Akhir)	
	Absorbansi	% Dekolorisasi	Absorbansi	% Dekolorisasi	Absorbansi	% Dekolorisasi	Absorbansi	% Dekolorisasi
Pengenceran 25%	2,0389	0,00%	0,1735	91,49%	0,0436	96,24%	0,0138	97,86%
	± 0,032		± 0,006	± 0,33 ^b	± 0,061	± 0,84 ^b	± 0,012	± 2,13 ^a
Pengenceran 50%	1,9263	0,00%	0,0534	97,22%	0,0212	91,97%	0,0212	98,90%
	± 0,039		± 0,036	± 1,88 ^a	± 0,009	± 10,54 ^b	± 0,021	± 0,51 ^a
Pengenceran 75%	1,8401	0,00%	0,0259	98,59%	0,1192	93,35%	0,1192	93,52%
	± 0,021		± 0,028	± 1,54 ^a	± 0,074	± 0,61 ^b	± 0,119	± 4,02 ^b
Pengenceran 100%	1,5121	0,00%	0,1328	91,21%	0,0785	86,19%	0,0785	94,80%
	± 0,156		± 0,014	± 0,98 ^b	± 0,059	± 1,63 ^c	± 0,078	± 3,90 ^{ab}

Keterangan: Persentase dekolorisasi dihitung berdasarkan penurunan absorbansi relatif terhadap absorbansi awal hari-0

Berdasarkan Tabel 4.2, persentase dekolorisasi limbah POME oleh *Pseudomonas aeruginosa* pada seluruh perlakuan telah mencapai lebih dari 86% sejak hari ke-3 inkubasi. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri ini memiliki kemampuan dekolorisasi yang sangat baik terhadap limbah POME. Hasil uji DMRT faktor tingkat pengenceran menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar perlakuan. Efisiensi dekolorisasi tertinggi pada hari ke-3 diperoleh pada perlakuan pengenceran 75% sebesar $98,59 \pm 1,54\%$, yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan pengenceran 50% sebesar $97,22 \pm 1,88\%$ (keduanya berada pada notasi huruf a). Sementara itu, efisiensi terendah pada hari ke-3 diperoleh pada perlakuan 100% sebesar $91,21 \pm 0,98\%$ dan pengenceran 25% sebesar $91,49 \pm 0,33\%$ (keduanya berada pada notasi huruf b).

Hasil uji DMRT faktor waktu inkubasi menunjukkan bahwa hari ke-3 dan hari ke-4 berada pada notasi huruf yang sama, yang berarti perbedaan dekolorisasi antara kedua hari tersebut tidak berbeda nyata secara statistik pada Sebagian besar perlakuan. Sementara hari ke-0 berbeda nyata dengan hari ke-3 dan hari ke-4 yang

mengindikasikan bahwa proses dekolorisasi oleh *Pseudomonas aeruginosa* telah berlangsung secara signifikan sejak hari ke-3 inkubasi. Pola peningkatan dekolorisasi ini berkaitan erat dengan dinamika pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* sebagaimana terlihat pada Gambar 4.2. Pada awal masa inkubasi, bakteri masih berada pada fase adaptasi (*lag*) terhadap substrat POME yang mengandung berbagai senyawa organik kompleks serta komponen yang berpotensi bersifat toksik, sehingga aktivitas enzim yang dihasilkan belum berlangsung secara optimal, sehingga tingkat dekolorisasi yang dicapai masih relatif rendah. Pada hari ke-3 hingga ke-5 inkubasi, bakteri yang diinokulasikan pada fase eksponensial (6-12 jam) menunjukkan tingkat viabilitas dan aktivitas metabolisme yang tinggi. Kondisi tersebut mendukung produksi enzim dekolorisasi, seperti *DyP-type peroxidase*, lignin peroksidase, dan lakase berlangsung secara optimal, sehingga mampu mempercepat proses dekolorisasi secara signifikan (Yang *et al.*, 2018).

Tingginya persentase dekolorisasi pada perlakuan tingkat pengenceran 50% dan 75% menunjukkan bahwa pada kedua konsentrasi tersebut, substrat POME masih cukup tinggi untuk mendukung aktivitas metabolik bakteri, namun tidak terlalu pekat sehingga menghambat kerja enzim ligninolitik. Sebaliknya, pada perlakuan 100% tanpa pengenceran, efektivitas dekolorisasi relatif lebih rendah, khususnya pada hari ke-4 yang hanya mencapai $86,19 \pm 1,63\%$. Hal ini diduga disebabkan oleh tingginya konsentrasi senyawa fenolik, tanin, dan melanoidin yang bersifat inhibitor terhadap aktivitas bakteri maupun enzim yang dihasilkannya, sehingga sebagian energi sel digunakan untuk mempertahankan diri dari tekanan lingkungan dan kemampuan degradasi senyawa penyebab warna menjadi berkurang (Putri & Febria, 2023).

Penurunan intensitas warna POME oleh *Pseudomonas aeruginosa* terjadi melalui mekanisme enzimatik yang melibatkan degradasi senyawa-senyawa penyebab warna. Salah satu kromofor utama atau molekul yang menyerap warna dalam POME adalah melanoidin, yaitu polimer kompleks berwarna gelap kecoklatan hingga kehitaman yang terbentuk melalui reaksi Maillard antara gula pereduksi dan asam amino selama proses sterilisasi tandan buah kelapa sawit (Zahra *et al.*, 2020). Gula pereduksi yang berperan dalam reaksi tersebut terbentuk dari hidrolisis hemiselulosa pada serat mesocarp kelapa sawit akibat panas tinggi selama proses sterilisasi, sedangkan asam amino berasal dari degradasi protein sel pada jaringan buah yang turut terurai pada kondisi tersebut, sehingga keduanya bereaksi secara non-enzimatik membentuk melanoidin (Hassan *et al.*, 2021).

Mesokarp buah kelapa sawit (*Elaeis guineensis*) secara inheren mengandung protein sebagai komponen alami sel-sel hidup jaringan buah, dengan kandungan crude protein berkisar antara 0,93–3,40% (Boadu *et al.*, 2021). Protein tersebut mencakup protein struktural maupun protein fungsional seperti enzim-enzim yang terlibat dalam metabolisme lipid, karbohidrat, asam amino, dan energi di dalam sel mesokarp (Ooi *et al.*, 2015). Selama proses sterilisasi tandan buah segar (TBS) menggunakan uap panas bertekanan tinggi, sel-sel mesokarp mengalami kerusakan struktural sehingga protein intraseluler terlepas ke dalam cairan limbah yang kemudian menjadi POME. Hal ini menjadikan POME mengandung nitrogen organik dalam bentuk protein dan asam amino sebagai bagian dari komposisinya. Selanjutnya, protein yang terlepas tersebut terdegradasi menjadi asam amino bebas melalui proses hidrolisis, di mana polimer kompleks seperti protein dipecah menjadi monomer-monomernya oleh kondisi suhu tinggi maupun aktivitas

mikroorganisme (Mohammad *et al.*, 2021). Asam amino bebas yang dihasilkan inilah yang kemudian bereaksi secara non-enzimatis dengan gula pereduksi melalui reaksi Maillard untuk membentuk melanoidin sebagai salah satu kromofor utama penyebab warna gelap pada POME.

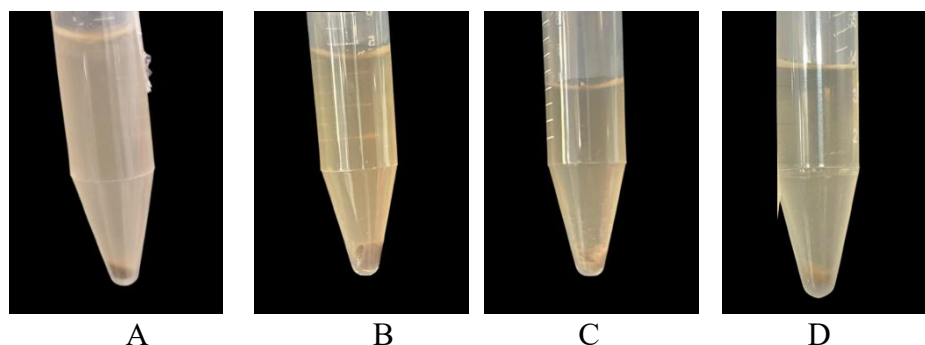
Warna pada POME selain melanoidin juga dipengaruhi oleh keberadaan senyawa turunan lignin, seperti asam ferulat, asam vanilat, asam kumarat, dan tanin, yang umumnya memberikan warna kuning hingga kecoklatan, lebih terang dibandingkan melanoidin (Grgas *et al.*, 2023). Kontribusi warna dari senyawa-senyawa tersebut berkaitan dengan keberadaan cincin aromatik dengan sistem ikatan rangkap terkonjugasi sebagai kromofor dasar, yang diperkuat oleh gugus auksokrom seperti hidroksil ($-OH$), metoksi ($-OCH_3$), dan karboksil ($-COOH$) pada strukturnya, sehingga mampu menyerap cahaya tampak dan menimbulkan warna (Hart *et al.*, 2012). Tanin memberikan kontribusi warna yang lebih kuat dibandingkan asam fenolik tunggal seperti asam ferulat atau vanilat, karena merupakan polimer fenolik dengan sistem konjugasi yang lebih luas, sehingga warnanya mendekati intensitas melanoidin (Grgas *et al.*, 2023).

Berkurangnya warna pada limbah POME selama proses inkubasi dengan *Pseudomonas aeruginosa* disebabkan oleh beberapa mekanisme yang saling berkaitan. Pertama, degradasi melanoidin, yaitu polimer berwarna gelap hasil reaksi Maillard yang menjadi kromofor utama POME. *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan enzim DyP-type peroxidase dan lakase yang berperan penting dalam proses ini melalui mekanisme reaksi yang berbeda. Enzim DyP-type peroxidase mengoksidasi gugus kromofor pada senyawa aromatik dengan memanfaatkan H_2O_2 (hidrogen peroksida) sebagai ko-substrat, sehingga mengubah senyawa kompleks

menjadi molekul yang lebih sederhana dan tidak berwarna (Yang *et al.*, 2018). Sementara itu, enzim lakase mendukung proses dekolorisasi melalui reaksi oksidasi satu elektron yang menghasilkan radikal fenolik tidak stabil, yang selanjutnya mengalami fragmentasi dan transformasi menjadi senyawa alifatik non-kromofor (Cui *et al.*, 2022). Kedua reaksi tersebut menyebabkan terputusnya sistem ikatan rangkap terkonjugasi yang berperan dalam pembentukan warna, sehingga polimer melanoidin terurai menjadi molekul-molekul yang lebih kecil, tidak berwarna, atau berwarna lebih pucat. Kedua, depolimerisasi lignin dan senyawa aromatik turunannya, seperti asam ferulat, asam vanilat, asam p-kumarat, dan asam siringat, yang merupakan produk depolimerisasi lignin atau terdapat dalam POME secara alami dan memiliki gugus kromofor penyerap cahaya tampak. Degradasi senyawa-senyawa ini oleh enzim ligninolitik turut memutus sistem ikatan rangkap terkonjugasi yang sama, sehingga warna yang ditimbulkannya ikut menghilang.

Ketiga, degradasi tanin dan senyawa fenolik, di mana senyawa fenolik polimerik seperti tanin juga berkontribusi terhadap warna POME; fragmentasi enzimatik oleh lakase dan peroksidase mengubah struktur tanin menjadi senyawa yang lebih sederhana dengan daya serap cahaya yang lebih rendah. Keempat, biosorpsi, yaitu penyerapan sebagian senyawa penyebab warna pada dinding sel bakteri melalui interaksi elektrostatik atau hidrofobik, sehingga mengurangi konsentrasi kromofor dalam larutan (Kuhad *et al.*, 2004). Keseluruhan proses tersebut berlangsung secara bertahap dan sangat bergantung pada ketersediaan oksigen sebagai akseptor elektron dalam reaksi oksidatif, sehingga kondisi aerob selama masa inkubasi menjadi faktor penting yang mendukung aktivitas enzimatik *Pseudomonas aeruginosa* dan meningkatkan efektivitas dekolorisasi limbah

POME. Perubahan warna yang terjadi selama proses dekolorisasi juga dapat diamati secara visual. Bukti fisik perubahan warna limbah POME pada tingkat pengenceran 50% (yang merupakan perlakuan paling efektif) disajikan pada Gambar 4.2



Gambar 4.2 Perubahan warna limbah POME pada tingkat pengenceran 50% selama proses dekolorisasi oleh *Pseudomonas aeruginosa*. (A) Hari ke-0, (B) Hari ke-3, (C) Hari ke-4, (D) Hari ke-5

Berdasarkan Gambar 4.2, warna limbah *Palm Oil Mill Effluent*(POME) pada hari ke-0 tampak cokelat pekat dengan intensitas warna yang tinggi. Pada hari ke-3, warna sampel mulai mengalami penurunan intensitas meskipun masih terlihat cukup keruh. Selanjutnya, pada hari ke-4 sampel tampak lebih jernih dibandingkan hari sebelumnya, dan pada hari ke-5 warna POME terlihat semakin pucat atau mendekati bening. Perubahan warna tersebut menunjukkan terjadinya proses dekolorisasi secara bertahap oleh *Pseudomonas aeruginosa* selama masa inkubasi.

Perubahan warna yang diamati secara visual menunjukkan kesesuaian dengan data absorbansi yang diperoleh melalui pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm. Pada awal inkubasi (hari ke-0) limbah POME memiliki warna cokelat kehitaman yang pekat dengan nilai absorbansi sebesar 1,9263, yang mengindikasikan tingginya kandungan senyawa kromofor, seperti melanoidin, lignin, tanin, dan senyawa fenolik di dalam

limbah (Meena *et al.*, 2023). Selama proses inkubasi, warna limbah mengalami pemudaran secara bertahap hingga hari ke-5 yang ditandai dengan penurunan nilai absorbansi secara signifikan menjadi 0,0212. Berkurangnya intensitas warna tersebut menunjukkan terjadinya proses dekolorisasi oleh *Pseudomonas aeruginosa*. Proses ini diduga berlangsung melalui aktivitas enzim oksidatif, seperti *DyP-type peroksidase* dan lakase, yang mengkatalisis pemutusan gugus kromofor pada struktur aromatik kompleks sehingga menghasilkan senyawa dengan tingkat pewarnaan yang lebih rendah atau tidak berwarna (Yang *et al.*, 2018).

Fenomena menarik ditemukan pada perlakuan pengenceran 75% di mana persentase dekolorisasi justru menurun dari 98,59% pada hari ke-3 menjadi 93,52% pada hari ke-4, kemudian stagnan di 93,51% pada hari ke-5. Penurunan efisiensi dekolorisasi ini diduga disebabkan oleh fenomena reolimerisasi (*re-polymerization*), yaitu proses pembentukan kembali senyawa polimer aromatik berwarna dari senyawa intermediat hasil degradasi parsial lignin yang terakumulasi dalam media. Repolimerisasi terjadi ketika senyawa intermediat berupa radikal fenoksi yang terbentuk selama depolimerisasi kembali berikatan membentuk molekul dengan berat molekul yang lebih tinggi, menyerupai mekanisme biosintesis lignin pada tanaman (Bugg *et al.*, 2024). Fenomena ini dilaporkan lebih sering terjadi pada proses degradasi lignin yang melibatkan enzim lakase, sehingga monomer-monomer fenolik hasil pemecahan lignin dapat terakumulasi apabila tidak segera mengalami katabolisme lanjutan (Grgas *et al.*, 2023). Pada perlakuan pengenceran 75%, konsentrasi substrat POME yang relatif tinggi diduga menghasilkan akumulasi senyawa intermediat dalam jumlah lebih besar dibandingkan perlakuan pengenceran 25% dan 50%. Kondisi tersebut

menyebabkan laju repolimerisasi menjadi lebih dominan dibandingkan laju dekolorisasi, yang tercermin dari meningkatnya nilai absorbansi pada hari ke-4. Selain itu, pada periode inkubasi hari ke-4 hingga ke-5, populasi bakteri diperkirakan mulai mengalami penurunan akibat berkurangnya ketersediaan nutrisi dalam media. Keadaan ini dapat memacu terjadi autolisis sel, sehingga berbagai senyawa hasil metabolisme maupun senyawa intermediat yang tersimpan di dalam sel dilepaskan Kembali ke dalam medium dan berkontribusi terhadap peningkatan nilai absorbansi yang teramati (Smug *et al.*, 2023).

Interaksi antara faktor waktu inkubasi dan tingkat pengenceran menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap efisiensi dekolorisasi ($p = 0,000$), yang mengindikasikan bahwa respons dekolorisasi pada setiap tingkat pengenceran tidak seragam terhadap pertambahan waktu. Pada pengenceran 25%, dekolorisasi meningkat secara konsisten 91,49% (hari ke-3), 96,24% (hari ke-4), 97,86% (hari ke-5). Pada pengenceran 50%, nilai dekolorisasi mencapai 97,22% pada hari ke-3, sempat turun ke 91,97% pada hari ke-4, kemudian meningkat Kembali mencapai 98,90% pada hari ke-5 sebagai nilai tertinggi pada perlakuan ini. Pola interaksi tersebut menunjukkan bahwa waktu inkubasi optimum tidak sama pada setiap tingkat pengenceran, sehingga optimasi kedua faktor secara simultan menjadi aspek penting untuk memperoleh efisiensi dekolorisasi yang maksimal. Berdasarkan pertimbangan operasional, pengenceran 50% dapat dianggap sebagai kondisi yang lebih optimal karena memberikan efisiensi dekolorisasi yang tidak berbeda nyata dibandingkan tingkat pengenceran 75% menurut hasil uji DMRT. Disamping itu, kebutuhan volume air pengencer yang lebih rendah menjadikan perlakuan ini lebih

ekonomis dan berpotensi meningkatkan efisiensi proses pada penerapan skala industri (Blanca *et al.*, 2017).

Hasil dekolorisasi yang diperoleh dalam penelitian ini menunjukkan kinerja yang lebih baik dibandingkan dengan beberapa penelitian sebelumnya. Penelitian yang dilakukan oleh Putri & Febria (2023) melaporkan bahwa persentase dekolorisasi sebesar 28,98% menggunakan inokulum bakteri yang berasal dari limbah POME dengan waktu inkubasi selama 20 hari. Jika dibandingkan dengan penelitian tersebut, nilai dekolorisasi yang dicapai dalam penelitian ini jauh lebih tinggi meskipun hanya memerlukan waktu inkubasi selama 5 hari. Penemuan ini mengindikasikan bahwa isolat *Pseudomonas aeruginosa indigenous* yang digunakan memiliki kemampuan ligninolitik yang lebih efektif dalam menurunkan intensitas warna limbah POME. Penelitian lain dilakukan oleh Elmi *et al.* (2015) menggunakan *Pseudomonas aeruginosa* strain NCIM 5223 dalam sistem *Microbial Fuel Cell* (MFC) dan berhasil mencapai dekolorisasi sebesar 80% setelah 5 hari perlakuan, mendapatkan hasil lebih rendah dibandingkan dengan hasil penelitian ini. Persentase dekolorisasi yang lebih tinggi pada penelitian ini diduga berkaitan dengan perbedaan sistem yang digunakan. Sistem batch aerob yang diterapkan memungkinkan ketersediaan oksigen yang lebih memadai sehingga dapat mendukung aktivitas enzim ligninolitik secara lebih optimal dibandingkan sistem MFC.

Penelitian lain yang dilakukan oleh Abdulsalam *et al.* (2020) melaporkan bahwa penghilangan warna POME sebesar 80,40% menggunakan *Klebsiella pneumonia* ABZ11 pada kondisi optimum yang meliputi konsentrasi 20% (v/v), konsentrasi awal 2.600 ADMI, pH 7, dan waktu retensi 35 jam. Perbedaan tersebut

diduga dipengaruhi oleh faktor pengenceran yang diterapkan pada penelitian ini. Pengenceran hingga 50% mampu menurunkan konsentrasi senyawa toksik dan inhibitor dalam limbah POME, sehingga menciptakan kondisi yang lebih mendukung bagi pertumbuhan bakteri dan aktivitas enzim dekolorisasi. Efisiensi dekolorisasi tertinggi yang dicapai sebesar 98,90% pada perlakuan pengenceran 50% dengan waktu inkubasi 5 hari mengindikasikan kemampuan bakteri tersebut dalam mendegradasi senyawa penyebab warna secara sangat efektif (Grgas *et al.*, 2023). Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *Pseudomonas aeruginosa indigenous* memiliki potensi yang tinggi sebagai agen bioremediasi untuk dekolorisasi limbah POME.

4.3 Tinjauan Hasil Penelitian Dalam Perspektif Al-Qur'an

Pemanfaatan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dalam proses biodegradasi lignin dan dekolorisasi limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME) merupakan salah satu bentuk pemanfaatan makhluk ciptaan Allah SWT untuk kemaslahatan lingkungan hidup. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemanfaatan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* mampu mendegradasi lignin sebesar 14,67% serta menurunkan intensitas warna limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME) atau dekolorisasi secara optimal pada faktor pengenceran 50% yaitu sebesar 98,90%. Kemampuan tersebut menunjukkan bahwa makhluk hidup berukuran sangat kecil juga memiliki peran penting dalam menjaga keseimbangan alam. Hal ini sejalan dengan firman Allah SWT dalam Al-Qur'an surah Al-Baqarah ayat 26:

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا ۚ فَأَمَّا الَّذِينَ آمَنُوا فَيَعْلَمُونَ
أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا ۚ يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا
وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا ۚ وَمَا يُضِلُّ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ ﴿٢٦﴾

Artinya: “Sesungguhnya Allah tidak segan membuat perumpamaan seekor nyamuk atau yang lebih kecil daripada itu. Adapun orang-orang yang beriman mengetahui bahwa itu kebenaran dari Tuhannya. Akan tetapi, orang-orang kafir berkata, “Apa maksud Allah dengan perumpamaan ini?” Dengan (perumpamaan) itu banyak orang yang disesatkan-Nya. Dengan itu pula banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. Namun, tidak ada yang Dia sesatkan dengan (perumpamaan) itu, selain orang-orang fasik.” (Q.S. Al-Baqarah [2]: 26)

Menurut tafsir Ibnu Katsir, ayat ini menjelaskan bahwa Allah tidak segan menjadikan makhluk yang kecil sebagai tanda kebesaran dan hikmah-Nya. Setiap makhluk yang diciptakan Allah memiliki fungsi dan manfaat tertentu yang dapat dipelajari oleh manusia. Pada penelitian ini, bakteri *Pseudomonas aeruginosa* merupakan contoh makhluk mikroskopis yang memiliki kemampuan biologis untuk mendegradasi lignin dan menurunkan intensitas warna limbah POME. Kemampuan tersebut menunjukkan bahwa makhluk yang tidak dapat dilihat secara langsung oleh mata manusia ternyata memiliki manfaat yang besar dalam mendukung pengelolaan lingkungan yang berkelanjutan.

Pemanfaatan bakteri dalam pengelolaan limbah juga sejalan dengan perintah Allah SWT untuk menjaga kelestarian lingkungan dan tidak melakukan kerusakan di muka bumi, sebagaimana yang diperintahkan dalam firman Allah Surah Al-A'rat ayat 56:

وَلَا تُفْسِدُوا فِي الْأَرْضِ بَعْدَ إِصْلَاحِهَا وَادْعُوهُ خَوْفًا وَطَمَعًا إِنَّ رَحْمَتَ اللَّهِ قَرِيبٌ مِّنَ

الْمُحْسِنِينَ ﴿٥٦﴾

Artinya: “Dan janganlah kamu berbuat kerusakan di bumi setelah diatur dengan baik. Berdoalah kepada-Nya dengan rasa takut dan penuh harap. Sesungguhnya rahmat Allah sangat dekat dengan orang-orang yang berbuat baik.” (Q.S. Al-A’raf: 56)

Menurut Shihab (2002), ayat ini menegaskan bahwa Allah SWT telah menciptakan bumi dalam keadaan yang harmonis, teratur, dan seimbang, sehingga segala bentuk pencemaran lingkungan termasuk pembuangan limbah POME yang mengandung lignin dan warna pekat tanpa pengolahan yang memadai merupakan bentuk gangguan terhadap keseimbangan yang telah Allah SWT tetapkan. Ibnu Katsir menambahkan bahwa larangan merusak bumi mencakup kerusakan fisik seperti pencemaran air dan tanah yang berdampak langsung pada terganggunya kehidupan makhluk hidup. Berbeda dengan sikap yang merusak tersebut, pemanfaatan *Pseudomonas aeruginosa* dalam penelitian ini justru merupakan bentuk nyata dari kepatuhan dan tanggung jawab manusia kepada Allah dalam memulihkan kualitas lingkungan yang telah tercemar, sekaligus menjadi perwujudan konsep *ishlah* yakni Tindakan perbaikan terhadap kerusakan yang terjadi (Katsir, 2004).

Upaya perbaikan lingkungan tersebut pada hakikatnya merupakan bagian dari kewajiban manusia dalam menjaga *mizan* atau keseimbangan alam yang telah Allah SWT ciptakan, sebagaimana yang ditegaskan dalam Q.S Ar-Rahman ayat 7-8:

وَالسَّمَاءَ رَفَعَهَا وَوَضَعَ الْمِيزَانَ
أَلَّا تَطْغَوْا فِي الْمِيزَانِ

Artinya: “Dan langit telah ditinggikan-Nya dan Dia menetapkan keseimbangan (keadilan). Agar kamu jangan merusak keseimbangan itu.” (Q.S. Ar-Rahman 7-8).

Menurut Shihab (2002) menjelaskan bahwa *mizan* tidak hanya bermakna keseimbangan dalam arti fisik semata, tetapi juga mencakup keseimbangan ekologis yang mengatur relasi antara manusia, makhluk hidup lainnya, dan lingkungan secara menyeluruh. Limbah POME yang mengandung lignin tinggi dan warna pekat terbukti mengganggu keseimbangan ekosistem perairan dengan cara menghambat penetrasi Cahaya matahari ke dalam badan air sehingga mengancam keberlangsungan hidup organisme akuatik. Dengan keberhasilan penelitian ini dalam mendegradasi lignin sebesar 14,67% dan menurunkan intensitas warna limbah hingga 98,90%, upaya pemulihan keseimbangan ekosistem perairan dapat terwujud secara konkret dan terukur.

Pemulihan keseimbangan ekosistem perairan tersebut memiliki urgensi yang sangat besar mengingat kedudukan air sebagai sumber kehidupan bagi seluruh makhluk hidup, sebagaimana yang ditegaskan dalam Q.S Al-Anbiya ayat 30:

وَلَمْ يَرَ الَّذِينَ كَفَرُوا أَنَّ السَّمُوتِ وَالْأَرْضَ كَانَتَا رَتْقًا فَفَتَقْنَاهُمَا ۖ وَجَعَلْنَا مِنَ الْمَاءِ كُلَّ شَيْءٍ
حَيٍّ أَفَلَا يُؤْمِنُونَ ﴿٣٠﴾

Artinya: “Apakah orang-orang kafir tidak mengetahui bahwa langit dan bumi, keduanya, dahulu menyatu, kemudian kami memisahkan keduanya dan Kami menjadikan segala sesuatu yang hidup berasal dari air? Maka, tidakkan mereka beriman?” (Q.S. Al-Anbiya: 30)

Ibnu katsir menjelaskan pada ayat (مِنَ الْمَاءِ كُلِّ شَيْءٍ حَيٍّ) yang

menegaskan bahwa betapa pentingnya peran air dalam menopang seluruh kehidupan di muka bumi, sehingga kemurnian dan kelestariannya wajib dijaga dari segala bentuk pencemaran. Limbah POME yang dibuang tanpa melalui proses pengolahan yang memadai tidak hanya berpotensi menurunkan kualitas ekosistem perairan, tetapi juga mengancam keberlangsungan hidup berbagai organisme yang bergantung pada sumber air tersebut. Oleh karena itu, keberhasilan proses dekolorisasi dalam penelitian ini merupakan kontribusi yang signifikan dalam memulihkan kualitas air agar dapat Kembali menjalankan fungsinya sebagai penopang kehidupan sebagaimana yang telah Allah tetapkan.

Berdasarkan uraian di atas, dapat ditegaskan bahwa hasil penelitian mengenai potensi *Pseudomonas aeruginosa* dalam mendegradasi lignin dan mendekolorisasi wana limbah POME tidak hanya memberikan kontribusi dalam ranah keilmuan, tetapi juga merepresentasikan implementasi nilai-nilai keislaman dalam menjaga dan memulihkan kelestarian lingkungan hidup. Penelitian ini merupakan perwujudan nyata dari tanggung jawab manusia sebagai *Khalifah fil ardh*, yaitu memanfaatkan ilmu pengetahuan secara bijaksana dan bertanggung jawab untuk memulihkan keseimbangan lingkungan yang telah terganggu, sekaligus menunaikan Amanah dari Allah SWT untuk senantiasa menjaga bumi dari segala bentuk kerusakan. Selain itu, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa setiap makhluk ciptaan Allah SWT memiliki tujuan, fungsi, dan hikmah tertentu. Meskipun bakteri merupakan organisme yang sangat kecil, keberadaannya mampu memberikan manfaat besar bagi kehidupan manusia, khususnya dalam bidang

bioremediasi lingkungan. Kesadaran akan fungsi dan manfaat setiap ciptaan Allah SWT seharusnya dapat mendorong manusia untuk semakin mengagumi kebesaran-Nya serta memanfaatkan ilmu pengetahuan dan teknologi demi kemaslahatan Bersama.

Refleksi tersebut sejalan dengan Firman Allah SWT dalam Al-Qur'an surah Al-Imran ayat 191:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ
السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya: “(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri, duduk, atau dalam keadaan berbaring, dan memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata), “Ya Tuhan kami, tidaklah Engkau menciptakan semua ini sia-sia. Mahasuci Engkau. Lindungilah kami dari azab neraka.” (QS. Ali-Imran: 191)

Ayat tersebut mengandung pengakuan bahwa seluruh ciptaan Allah SWT memiliki tujuan dan hikmah yang tidak diciptakan secara sia-sia. Pada penelitian ini, kemampuan *Pseudomonas aeruginosa* dalam mendegradasi lignin dan mendekolorisasi limbah POME menjadi salah satu bukti bahwa makhluk hidup yang berukuran kecil sekalipun memiliki peran penting dalam menjaga keseimbangan lingkungan. Oleh karena itu, pemanfaatan bakteri dalam pengolahan limbah tidak hanya mencerminkan kemajuan ilmu pengetahuan, tetapi juga menjadi sarana untuk memahami kebesaran Allah SWT melalui manfaat yang terkandung dalam setiap ciptaan-Nya.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* terbukti memiliki potensi dalam mendegradasi lignin limbah POME. Konsentrasi inokulum berpengaruh signifikan terhadap persentase degradasi lignin berdasarkan uji *One-Way* ANOVA ($p < 0,05$). Persentase degradasi lignin tertinggi diperoleh pada konsentrasi inokulum 5% (v/v) sebesar $14,67 \pm 4,04$ setelah inkubasi selama 7 hari pada suhu 35°C , dan terendah pada konsentrasi 30% sebesar $2,00 \pm 1,00$. Peningkatan konsentrasi inokulum di atas 5% menyebabkan penurunan efektivitas degradasi yang diduga disebabkan oleh mekanisme inhibisi kepadatan sel, akumulasi metabolit intermediat yang bersifat toksik, serta berkurangnya ketersediaan oksigen dalam media inkubasi.
2. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* terbukti memiliki potensi dalam mendekolorisasi limbah POME. Tingkat pengenceran dan waktu inkubasi berpengaruh signifikan terhadap persentase dekolorisasi berdasarkan uji *Two-Way* ANOVA ($p < 0,05$), dan terdapat interaksi nyata antara kedua faktor tersebut. Persentase dekolorisasi tertinggi diperoleh pada tingkat pengenceran 50% dengan waktu inkubasi 5 hari sebesar 98,90%, sedangkan nilai terendah diperoleh pada tingkat pengenceran 100% hari ke-4 sebesar 86,19%. Tingginya efisiensi dekolorisasi pada pengenceran 50% disebabkan oleh menurunnya konsentrasi senyawa toksik dan inhibitor dalam limbah POME sehingga mendukung aktivitas enzimatis *Pseudomonas aeruginosa* secara lebih optimal dalam mendegradasi senyawa kromofor penyebab warna.

5.2 Saran

Saran dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Optimasi parameter kondisi inkubasi, meliputi variasi pH, suhu, kecepatan agitasi, dan sumber nutrisi tambahan guna meningkatkan persentase degradasi lignin oleh *Pseudomonas aeruginosa* pada limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME).
2. Variasi waktu inkubasi yang lebih panjang, yaitu lebih dari 7 hari untuk degradasi lignin dan lebih dari 5 hari untuk dekolorisasi, perlu diteliti untuk menentukan titik jenuh degradasi sekaligus mencegah fenomena repolimerisasi yang dapat menurunkan efisiensi dekolorisasi.
3. Pengamatan kurva pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* perlu diperpanjang hingga lebih dari 24 jam untuk mengidentifikasi fase stasioner secara penuh, sehingga waktu optimal produksi enzim ligninolitik sebagai metabolit sekunder dapat ditentukan dengan lebih akurat.
4. Enzim ligninolitik spesifik seperti DyP-type peroksidase, lignin peroksidase (LiP), dan mangan peroksidase (MnP) secara kuantitatif, serta identifikasi produk degradasi menggunakan analisis GC-MS atau FTIR untuk memahami jalur metabolisme degradasi lignin secara lebih mendalam.
5. Penggunaan konsorsium bakteri ligninolitik secara sinergis perlu dieksplorasi untuk meningkatkan efektivitas biodegradasi lignin dan dekolorisasi warna limbah POME secara bersamaan.
6. Pengukuran parameter kualitas limbah secara komprehensif perlu dilakukan untuk mengevaluasi kesesuaian hasil pengolahan dengan baku mutu yang ditetapkan dalam Peraturan Menteri Lingkungan Hidup Nomor 5 Tahun 2014.

7. Penelitian skala besar perlu dilakukan agar hasil penelitian ini dapat diaplikasikan secara nyata pada sistem pengolahan limbah POME di industri kelapa sawit, khususnya di wilayah Jawa Timur.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdulsalam, m., Man, H.C., Abidin, Z.Z., Yunus, K.F., & Idris, A.I. (2020). Decolorization of *Palm Oil Mill Effluent* by *Klebsiella Pneumonia* ABZ 11: Remediation Efficacy and Statistikal Optmizication Of Treatments Conditions. *Frontiers in Microbiology*, 11: 675
- Abidin, N.M., & Rakhmawati, A. (2023). Keragaman Bakteri Yang Berpotensi Sebagai Agen Pendegradasi Limbah Masker Berbahan Polipropilen yang Diisolasi dari Pantai Parangtritis dan Tanjung Pasir. *Jurnal Sains Dasar*, 12(2): 116-126
- Abriyani, E., Widyaningsih, A., Pangetu, A.D., Dewi, S.R., & Setiawan, S. (2023). Literatur Review: Penetapan Kadar Salbutamol Sedian Tablet Secara Spektrofotometri Ultraviolet. *Jurnal Pendidikan dan Konseling*, 5(1): 813-822
- Ahmed, A. A. Q., Babalola, O. O., & McKay, T. (2016). *Lignin degradation by two isolated Bacillus spp. and their co-culture potential in the production of platform chemicals from lignin*. Department of Environmental Sciences, School of Agriculture and Environmental Sciences, University of South Africa. 65-72.
- Agustia, F., Syarifah, U., Utami, U., & Harianie, L. (2025). Mengkaji Keajaiban Mikroorganisme (Ligninolitik dan Relevansinya dalam Alqur'an). *Al-I'jaz : Jurnal Studi Al-Qur'an, Falsafah, dan Keislaman*, 7(1): 95-112
- Alqorni, K. U., Dahlan, H., & Arita, S. (2024). Integrated Process of *Palm Oil Mill Effluent* using Electrocoagulation, Active Carbon Filter, Zeolite and Membrane Separation Technology. *IJFAC (Indonesian Journal of Fundamental and Applied Chemistry)*, 9(1), 9–17.
- Anwar, F., & Arthanareeswaran, G. (2019). Silver nano-particle Coated By Hydroxyapatite nano-composite membrane for the treatment of *Palm Oil Mill Effluent* (POME). *Journal Water Process Eng.* 31, 10084
- Badan Pusat Statistik. (2024). *Statistik Kelapa Sawit Indonesia 2023* (Vol. 17). Jakarta: Badan Pusat Statistik.
- Bajwa, D.S., Pourhashem, G., Ullah, A.H., & Bajwa, S.G. (2019). A concise review of current lignin production, applications, products and their environmental impact. *Ind. Crops Prod.*, 139, 111526.
- Bala, J.D., Lalung, J., & Ismail, N. (2014). Biodegradation of *Palm Oil Mill Effluent* (POME) by Bacterial. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 4(3) : 1-10
- Balk, M.; Sofia, P.; Neffe, A.T.; Tirelli, N. (2023). Lignin, the Lignification Process, and Advanced, Lignin-Based Materials. *International Journal of Molecular Sciences*, 24, 11668
- Barcelos, E., Almeida, R.S., Cunha, R.N.V., Lopes, R., Motoike, S.Y., Babiychuk, E., Aleksandra, S.K.S. (2015). Oil palm natural diversity and the potential for yield improvement. *Journal Frontiers in Plant Science*. 6:190.
- Biko, O., Viljoen-Bloom, M., & Zyl, W. H. (2020). Microbial Lignin Peroxidases: Applications, Production Challenges and Future Perspectives. *Enzyme and Microbial Rechnology*, 141, 1–10.
- Blanca. M.J., Alarcon, R., Arnau, J., Bono, R., & Bendayan, R. (2017). Non-Normal Data : Is ANOVA Still a Valid Option. *Psicothema*, 29(4) : 552-557.

- Boadu, V. G., Essuman, E. K., Otoo, G. S., & Bigson, K. (2021). The impact of different drying techniques on the physicochemical and quality characteristics of oil palm fruit mesocarp (*Elaeis guineensis*). *International Journal of Food Science*, 2005502.
- Brauns, F., & Brauns, D. (2013). The Chemistry of Lignin: Covering the Literature for the Years 1949 – 1958. *Elsevier*
- Brebu, M., & Vasile, C. (2010). Thermal Degradation of Lignin- A Review. *Cellulose Chemical Technology*, 44 : 353-363
- Brooks, F. G., Carroll, K.C., Butel, S.J. and Morse, A.S. (2004). *Medical Microbiology*, 22th ed. Megraw hill. New York.
- Brooks, F.G., Carroll, K.C., Butel, S.J. and Morse, A.S. (2007). *Medical Microbiology*, 24th ed. Megraw hill. New York.
- Bugg, T.D.H., Ahmad, M., Hardiman, E.M., & Rahmanpour, R. (2011). Pathways For Degradation of Lignin in Bacteria and Fungi. *Natural Product Reports*, 28 (12): 1883-1896
- Christoper, L.P., Yao, B., & Ji, Y. (2014). Lignin Biodegradation With Laccase Mediator Systems. *Frontier Energy Research*, 2 :12
- Corley, R.H.V., (2009). How much palm oil do we need. *Journal Environmental Science and Policy*.12:134-9.
- Cui, L., Wang, Z., Zeng, Y., Yang, N., Liu, M., Zhao, Y., & Zheng, Y. (2022). Lignin Biodegradation and Its Valorization. *Fermentation*, 3 : 366
- DDarwin., Mardhotillah., & Pratama, A. (2021). Anaerobic Co-Digestion of Oil Palm Waste With Cow Manure For Biogas Production: Influence of A Stepwise Organik Loading On The Methane Productivity. *Bulletin of The Transilvania University of Brasov*, 14 (63)
- Dewi, S.S., & Lamona, A. (2025). Pengaruh Limbah Cair Kelapa Sawit Terhadap Kesehatan Lingkungan di PT Incasi Raya Group. *Jurnal Kesehatan Lentera 'Aisyiyah*, 8(1): 30-37
- Diggle, S.P., & Whiteley, M. (2019). Microbe Profile: *Pseudomonas aeruginosa*: Opportunistic Pathogen and Lab Rat. *Microbiology*, 166(1): 30-33
- Dube, S.I., Osunsanmi, F.O., Ngcobo, B.P., Mkhwanazi, L.B., Jobe, Z.Z., Aruleba, R.T., Mosa, R.A., & Opoku, A.R. (2023). Isolation and Characterization of Potential Lignin Peroxidase-Producing Bacteria from Compost Samples at Richards Bay (South Africa). *Sciendo : Polish Journal of Microbiology*, 1-8
- Dube, S.L., Osunsami, F.O., Ikhane, A.O., Mosa, R.A., & Opoku, A.R. (2023). Optimization of The Culture Conditions of Bacterial Strains (*Escherichia coli* LR02500961 and *Pseudomonas aeruginosa* CP031449.2) to Produce Lignin Peroxidase. *Preprints*, 1-10
- Donkadokula, N.Y., Kola, A.K., Naz, I., & Saroj, D. (2020). A Review On Advanced Physico-Chemical And Biological Textile Dye Wastewater Treatment Techniques. *Reviews In Environmental Science And Biotechnology*. 19(3): 543-560.
- Elmi, H.SH.A., Nor, M.H.MD., & Ibrahim, Z. (2015). Colour and COD Removal from Palm Oil Mill Effluent(POME) Using *Pseudomonas aeruginosa* Strain NCIM 5223 in Microbial Fuel Cell. *International Journal of Waste Resources*, 5 (3), 1000181

- Elvitriana., Munir, E., Delvian., & Wahyuningsih, H. (2021). Organik Substances Reduction in *Palm Oil Mill Effluent*(POME) After Cultivation With Locally Isolated Microalgae. *Journal of Advanced Research in Fluid Mechanics and Thermal Sciences*, 80(2): 98-105
- Febriani, C. Y. (2021). Hidrolisis Lignoselulosa dan Karakterisasi Lignin Dari Material Limbah Kelapa Dengan Metode Hidrolisis Asam Sulfat. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 10(2), 45-56.
- Food and Agricultural Organization of the United Nations. (2024). *FAO Director-General visits palm oil producer on Indonesian island of Sumatra*. <https://www.fao.org/director-general/news/details/fao-director-general-visits-palm-oil-producer-on-indonesian-island-of-sumatra/en>. [24 September 2025).
- Ganapathy, B., Yahya, A., & Ibrahim, N. (2019). Bioremediation of *Palm Oil Mill Effluent*(POME) Using *Indigenous Meyerozyma guilliermondii*. *Environmental Science and Pollution Research*, 26: 11113: 11125
- Galazka, A., Jankiewicz, U., & Orzechowski, S. (2025). The Role of Ligninolytic Enzymess in Sustainable *Agriculture : Applications and Challenges*. *Agrompy*, 15, 451
- Galbe, M. & Wallberg, O. (2019). Pretreatment For Biorefineries: A Review Of Common Methods For Efficient Utilisation Of Lignocellulosic Materials. *Biotechnology For Biofuels*, 12: 294
- Galiwango, E., Rahman, N. S. A., Al-Marzouqi, A. H., Abu-Omar, M. M., dan Khaleel, A. A. (2018). Klason Method: An Effective Method For Isolation Of Lignin Fractions From Date Palm Biomass Waste. *Chemical And Process Engineering Research*, 57, 46-58.
- GAPKI (Gabungan Pengusaha Kelapa Sawit Indonesia). (2016). *Keunggulan Komparatif Kelapa Sawit sebagai Minyak Nabati Dunia*. <https://gapki.id/news/2016/12/22/keunggulan-komparatif-kelapa-sawit-sebagai-minyak-nabati-dunia/>. [24 September 2025]]
- GAPKI (Gabungan Pengusaha Kelapa Sawit Indonesia). (2022). *Global Palm Oil Demand Rising*. <https://gapki.id/en/news/2022/11/03/global-palm-oil-demand-rising-sustainability-market-stunted/>. [08 Oktober 2025]
- Gaur, N., Narasimhulu, K., & Pydisetty, Y. (2018). Biochemical and Kinetic Characterization of Laccase and Maganese Peroxidas Novel : *Klebsiella pneumoniae* Starins and Their Application in Bioethanol Production. *RSC Adv*, 8, 15044-15055
- Govan, J.R. (2007). *Pseudomonas and non fermenters* ,*Medical Microbiology* .17th ed.Churchill Livingtone : Elsevier.
- Grgas D., Rukavina, M., Beslo, D., Stefana, T., Crnek, V., Sikic, T., Habuda, S.M., & Landeka, D. (2023). The Bacterial Degradation of Lignin- A Review. *Water*, 15, 1272.
- Hart, D.J., Hadad, C.M., Craine, L.E., Hart, H. *Organik Chemistry- A Short Course* (13TH ed). Boston: Cengage Learning.
- Hassan, N.S.M., Hossain, M.S., Balakhrisnan, V., Zuknik, M.H., Mustaner, M., Easa, A.M., Al-Gheeti, A., & Yahaya, A.A.N. (2021). Influence of Fresh Palm Fruit Sterilization in the Production of Carotenoid-Rich Virgin Palm Oil. *Foods*, 10, 2838.

- Hatakka, A. (1994). Lignin-Modifying Enzymes From Selected White-rot Fungi : Production and Role From in Lignin Degradation. *FEMS Microbiology Reviews*, 13(2-3) : 125-135
- Hidayati, F., Dewi, E.I.P., & Maulina, C. (2023). Mikroorganisme Dalam Perspektif Islam: “Keajaiban Kecil Dalam Ciptaan Allah”. *Journal Islamic Education*, 1(4) : 438-450
- Higuchi, T. (2004). Microbial degradation of lignin: role of lignin peroxidase, manganese peroxidase, and laccase. *Proc. Jpn. Acad. B*, 80: 204–214
- Hermansyah, H., Putri, D.,N., Prasetyanto, A., Chairuddin, Z.B., Perdani, M.S., Sahlan, M., & Yohda, M. (2019). Delignification Of Oil Palm Empty Fruit Bunch Using Peracetic Acid And Alkaline Peroxide Combined With The Ultrasound. *International Journal Of Technology (Ijtech)*, 10(8).
- Hodasova, L.; Jablonsky, M.; Skulcova, A.B.; Haz, A. (2015). Lignin, potential products and their market value. *Wood Res*, 60 : 973–986.
- Hsin, K.T., Lee, H., Huang, Y.C., Lin, G.J., Lin, P.Y., Lin, Y.C.J., & Chen,P.Y. (2025). Lignocellulose Degradation in Bacteria and Fungi : Cellulosomes and Industrial Relevance. *Frontiers Microbiology*, 16 : 1583746
- Hussains, M.J.A., & Mschachal, M.A. (2022). The Characteristics of The *Pseudomonas aeruginosa* and How To Prevention From Them. *Al-Kufa University Journal For Biology*, 14(2):86-99
- Ibrahim, A.H., Ridwan, M.F., Abidin, C.Z.A., Ong, S.A., Wong, Y.S., Azhari, A.W., & Ozir, S.N. (2018). Lignin Recovery and it Effect Quality of Anaerobic Treated *Palm Oil Mill Effluent*(AT-POME). *E3S Web of Conferences*, 34
- Iglewski, B.H. (1991). *Pseudomonas* In: Baron S., and Jennings, P.M. (eds) *Medical Microbiology*, 3rd ed., NY: Churchill Livingstone, pp. 389-396.
- Imam, S.S., Sani, S., Mujahid, M., & Adnan, R. (2025). Valuable resources recovery from *Palm Oil Mill Effluent*(POME): A short review on sustainable wealth reclamation. *Waste Management Bulletin*, 3 : 1-16
- Irawan, A. (2019). Kaalibrasi Spektrofotometer Sebagai Penjaminan Mutu Hasil Pengukuran Dalam Kegiatan Penelitian Dan Pengujian. *Indonesian Journal of Laboratory*, 1(2): 1-9
- Irawati, W., Timotius, V.AC., Adhiwijaya, R.P., & Marvella, E.B. (2022). Karakterisasi Resistensi dan Dekolorisasi Berbagai Pewarna Oleh Bakteri Indigen Indonesia *Escherichia coli* Strain CN5. *Jurnal Biologi Papua*, 14(2): 109-117
- Irawati, W., Pinontoan, R., Mouretta,B., & Yuwono, T. (2022).The potential of copper-resistant bacteria *Acinetobacter* sp. strain CN5 in decolorizing dyes. *Biodiversitas*. 23(2): 679-685
- Justman, J.O., Pinem, J.A., & Daud, S. (2019). Pengolahan *Palm Oil Mill Effluent*(POME) Menggunakan Teknologi Membran dan Pre-Treatment Koagulasi dan Flokulasi. *Jom.FTEKNIK*, 6(2): 1-7.
- Jiang, C., Cheng, Y., Zang, H., Chen, X., Zhang, Y., Wang, J., Shen, X., & Li, C. (2019). Biodegradation Lignin and Degradation Pathway by psychrotropic *Arthrobacter* sp C2 From the Cold Region of China, *Cellulose*.
- Kabede, G., Tafese, T., Abda, E.M., Kamaraj, M., & Assefa, F. (2021). Factors Influencing the Bacterial Bioremediation of Hydrocarbon Contaminants In The Soil : Mechanism and Impacts. *Journal of Chemistry*, 9823362

- Kabede, B.T., Park, S., Lee, J.H., & Sung, J.K. (2021). Cell Density-Dependent Inhibition as a Limiting Factor in Microbial Biodegradation. *Biosource Technology*, 342, 125991
- Kacaribu, A.A., Aisyah, Y., Febriani., & Darwin. (2025). Development of Wastewater Treatment Methods For *Palm Oil Mill Effluent*(POME) : A Comprehensive Review. *Resources Chemicals and Materials*, 4, 100130
- Kementerian Perindustrian RI. (2020). *Gambaran Sekilas Industri Minyak Kelapa Sawit*. Jakarta Selatan : Departemen Perindustrian
- Khan, I.U., Rahman, M.A., Othman, M.H.D., Iftikhar, M., Jilani, A., Mehmood, S., Shakoor, M.B., Rizwan, M., & Yong, J.W.H. (2025). Innovative Solutions For *Palm Oil Mill Effluent* Treatment: A Membrane Technology Perspective. *ACS S&T Water*, 5 : 3538-3562
- Kirk, T.K., & Farrel, R.L. (1987). Enzymatic ‘Combustion’: The Microbial Degradation of Lignin. *Annual Review of Microbiology*, 41, 465-505
- Koffi, A.A., Kouame, K.V., Yao, K.B., & Kouadio, E.J.P (2023). Statistikal Approach to Assess the *Palm Oil Mill Effluents* Biotreatment with *Yarrowia lipolytica*. *Innovative Romanian Food Biotechnology*, 32: 45-47.
- Kuhad, R., Sood, N., Tripathi, K., Singh, A., & Ward, . (2004). Developments in microbial methods for the treatment of dye effluents. *In Advances in Applied Microbiology*. 56: 185–213.
- Kumar, A. & Chandra, R. (2020). Ligninolytic Enzymes and Its Mechanisms for Degradation of Lignocellulosic Waste in Environment. *Heliyon*, 6, 03170.
- Lamtiar, H., Yenie, E., & Yelmida. (2015). Isolasi Lignin dari Jerami Padi dengan Metode Klason. *JOM FTEKNIK*, 2(2):1-9
- Lawoko, M., Berglund, L., & Johansson, M. (2021). Lignin as a renewable substrate for polymers: from molecular understanding and isolation to targeted applications. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 9(16) : 5481–5485
- Lexia, N., & Ngibad, K. (2021). Aplikasi Spektrofotometri Terhadap Penentuan Kadar Besi Secara Kuantitatif Dalam Sampel Air. *Jurnal Pijar MIPA*, 16(2): 242-246
- Loretta, O.K., Stephen, E., Ezeata, A., & Usman, E. (2016). In Vitro Biodegradation of *Palm Oil Mill Effluent*(POME) By *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Aspergillus niger*. *Journal Of Bioremediation & Biodegradation*, 7 : 361
- Ma, Y.S., Chang, C.N., Chiang, Y.P., Sung, H.F., & Chao, A.C. (2008). Photocatalytic degradation of lignin using Pt/TiO₂ as the catalyst. *Chemospher*, 71 : 998-1004
- Maraghi, S. A. M. (2001). *Tafsir al-Maraghi*. Dar al-Fikr.
- Mardani, M. (2025). Perkembangan dan Peluang Industri Kelapa Sawit Di Indonesia Untuk Masa Depan Yang Akan Datang. *Maliki Interdisciplinary Journal (MIJ)*, 3(5) : 1495-1500
- Marini, L.F., Sarungallo, P., Pramanagara, R.O., & Budi, H.A.S. (2022). Analisis Ekonomi Pemanfaatan Limbah Pabrik Kelapa Sawit (PKS) sebagai Bahan Bakar Boiler (Studi Kasus PT. Medco Papua Hijau Selaras. *Igya Ser Hanjop*, 4(1): 53-65
- Mateo, S., Fabbri, G., & Moya, A.J. (2025). Lignin From Plant-Based Agro-Industrial Biowastes: From Extraction to Sustainable Applications. *Polymers*, 17,952

- Medina, J.D.C., Woiciechowaki, A., Filho, A.Z., Nosedá, M.D., Kaur, B.S., & Soccol, C.R. (2015). Lignin Preparation From Oil Palm Empty Fruit Bunches By Sequential Acid/Alkaline Treatment – A Biorefinery Approach. *Bioresource Technology*, 194 : 172-178
- Meena, A. A. R., J. Merrylin., J. R. B., Bhatia, S. K., Kumar, V., Piechota, G., & Kumar, G. (2023). A review on the pollution assessment of hazardous materials and the resultant biorefinery products in *Palm Oil Mill Effluent*. *Environmental Pollution*, 328, 121525
- Mohammad, I.N., Ongkudon, C.M., & Misson, M. (2020). Physicochemical Properties and Lignin Degradation of Thermal-Pretreated *Oil Palm Empty Fruit Bunch*. *Energies*, 13(22), 5966 : 1-12
- Mohammad, S., Baidurah, S., Kobayashi, T., Ismail, N., & Leh, C.P. (2021). *Palm Oil Mill Effluent* Treatment Processes-A Review. *Processes*, 9 : 739
- Neoh, C.H., Lam, C.Y., Lim, C.K., Yahya, A., & Ibrahim, Z. (2014). Decolorization of *Palm Oil Mill Effluent* Using Growing Cultures of *Culvularia clavata*. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(6), 4397-4408
- Ooi, T. E. K., Yeap, W. C., Daim, L. D. J., Ng, B. Z., Lee, F. C., Othman, A. M., Appleton, D. R., Chew, F. T., & Kulaveerasingam, H. (2015). Differential abundance analysis of mesocarp protein from high- and low-yielding oil palms associates non-oil biosynthetic enzymes to lipid biosynthesis. *Proteome Science*, 13, 28
- O.L. Okwute., U.J.J. Ijah., B.E.N. Dauda., & S.K. Okwute. (2020). Bioremediation of *Palm Oil Mill Effluent* (POME) Polluted Soil Using Microorganisms Found in Organic Waste. *The International Journal of Biotechnology*, 3(3): 32-46
- Pacheco, P., Gnych, S., Dermawan, A., Komarudin, H., & Okarda, B. (2017). *The palm oil global value chain: Implications for economic growth and social and environmental sustainability*. Bogor : Center for International Forestry Research (CIFOR).
- Pahan, I. (2007). *Panduan Lengkap Kelapa Sawit*. 3. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Pinheiro, L., Gradissimo, D., Xavier, L., & Santos, A. (2022). Degradation of azo dyes: Bacterial potential for bioremediation. *Sustainability*. 14(1510): 1-23.
- Prakoso, H. T., Widiastuti, H., Suharyanto., & Siswanto. (2014). Eksplorasi dan Karakterisasi Bakteri Aerob Ligninolitik serta Aplikasinya untuk Pengomposan Tandan Kosong Kelapa Sawit. *Jurnal Menara Perkebunan*, 82(1) : 15-24.
- Prakoso, H.T., Dimawarnita, F., Syarif, A.M., Faramitha, Y., & Widiastuti, H. (2022). Dekolorisasi Pewarna Tekstil Menggunakan Teknik Batch dan Rotary Biological Contractor Dengan Tiga Jenis Agen Hayati. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 32(3): 295-304
- Pramana, A., Cahyanto, M.N., Adhinata, H. & Zalfiatri, Y. (2020). Karakteristik Fisik Lignin pada Serat Tandan Kosong Kelapa Sawit PT. Tunggal Perkasa Plantation Provinsi Riau Menggunakan Metode Organosolv. *Jurnal Pengendalian Pencemaran Lingkungan (JPPL)*, 2(1) : 43-49
- Putri, G.E., & Febria, F.A. (2023). Isolasi dan Pengujian Isolat Bakteri Dari Limbah POME (*Palm Oil Mill Effluent*) Sebagai Agen Dekolorisasi Dalam Upaya

- Penyehatan Lingkungan. *Jurnal Kesehatan Medika Saintika*, 1492) :4144-423
- Purwanti, I.F., Kurniawan, S.B., & Imron, M.F. (2019). Potential of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from Aluminium- Contaminated Site in Aluminium Removal and Recovery From Wastewater. *Enviromental Teechnology & Inovation*, 15, 10042
- Puss, K. K., Loog, M., & Salmar, S. (2023). Ultrasound enhanced solubilization of forest biorefinery hydrolysis lignin in mild alkaline conditions. *Ultrasonics Sonochemistry*, 93, 106288.
- Raja, P.M., Giyanto., & Barus, S. (2021). Karakteristik Kandungan Unsur N,P, dan K Limbah Cair Pabrik Kelapa Sawit Kolam Anaerob Dengan Kuantitas Bentonit. *Jurnal Agrium*, 18(2): 95-101
- Rama, M. (2019). Pengujian Karakteristik Kimia pada Limbah Cair Kelapa Sawit di Pabrik X. *Jurnal Biologica Samudra*, 1(1) : 1-8
- Ryan R., Monchy, S., Cardinale, M., Taghavi, S., Crossman, L., Avison, M., Berg, G., van der Lelie, & Dow, J. (2009). The versatility and adaptation of bacteria from the genus *Stenotrophomonas*. *Nature Review Microbiology*. 7: 514–525.
- Rofiah, A., & Machfudz, A. (2014). Kajian dosis sukrosa dan sirup glukosa terhadap kualitas permen karamel susu. *Nabatia*. 11(1) 55-65.
- Rohmah, S.A.A., Muadifah, A., Martha, R.D. (2021). Validasi Metode Penetapan Kadar Pengawet Natrium Benzoat pada Sari Kedelai di Beberapa Kecamatan di Kabupaten Tulungagung Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 3(2): 120-127
- Ru, J., Jiang, Z., Li, J., Li, X., Su, Z., Li, T., & Xu, M. (2025). Screening of Microbial Consortium With High Efficien of Lignin-Degrading and its Synergistic Metabolic Mechanism. *Frontiers in Microbiology*, 16: 1709019.
- Rupaedah, B., Purwoko, D., Saffarida, A., Tajuddin, T., Wahid, A., Sugianto, M., Suja'i, I., & Suyono, A. (2019). Skrining dan Identifikasi Mikroba Ligninolitik pada Pengomposan Alami Tandan Kosong Kelapa Sawit. *Jurnal Bioeknologi & Biosains Indonesia*, 6(1)
- Rupani, P. F., Singh, R. P., Ibrahim, M. H., & Esa, N. (2010). Review of current *Palm Oil Mill Effluent*(POME) treatment methods: Vermicomposting as a sustainable practice. *World Applied Sciences Journal*, 11(1), 70–81.
- Sekhi, R.J. (2022). *Pseudomonas aeruginosa*: A Review Article. *European Scholar Journal (ESJ)*, 3(3): 78-84
- Semana, P., and Powlowski, J. (2019). Four aromatic Intradiol ring cleavage dioxygenases from *Aspergillus niger*. *Appl. Environ.* 85:1786
- Sharuddin, S.S., Ramli, N., Mohd-Nor, M.A., Hassan, T., Maeda, Y., Shirai, K., Sakai., & Tashiro, Y. (2018). Shift of Low to High Nucleic acid Bacteria as a Potential Bioindicator for the Screening of Anthropogenic Effects in a Receiving River Due to *Palm Oil Mill Effluent* Final Discharge. *Ecological Indicators*, 85: 79-84.
- Shihab, M.Q. (2002). *Tafsir Al-Mishbah : Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an*. Tangerang : Lentera Hati
- Shihab, M. Q. (2002). *Tafsir al-misbah*. Jakarta: Lentera hati, 2, 52-54.
- Smug, B.J., Opalek, M., Necki, M., & Dominika W.S. (2023). Microbial Lag Calculator : A Shiny-based Application and an R Package for Calculating

- the Duration of Microbial Lag Phase. *Methods in Ecology and Evolution*, 15: 301-307.
- Soleimaninanadegani, M., & Manshad, S. (2014). Enhancement of Biodegradation of *Palm Oil Mill Effluents* by Local Isolated Microorganisms. *Hindawi Publishing Corporation International Scholarly Research Notices*, 1-8.
- Subowo, Y.B. (2019). Seleksi Jamur Penghasil Enzim Ligninase dan Kemampuannya Menguraikan Limbah Cair Kelapa Sawit. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*, 1(8) : 1766-1770
- Suhartati, T. (2017). *Dasar-dasar Spektrofotometri UV-VIS Dan Spektrometri Massa Untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Bandar Lampung : Anugrah Utama Raharja
- Sumarlin, L.O., Faturrahman., & Chalid, S.Y. (2019). Potensi Limbah Padat Kelapa Sawit sebagai Antibrowning dan Repellent *Aedes Aegypti*. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*, 24(2):117-126
- Susila, W.R. (2025). *Peluang Pengembangan Kelapa Sawit di Indonesia: Perspektif Jangka Panjang*. Bogor : Lembaga Riset Perkebunan Indonesia.
- Tamrin, K. F., & Zahrim, A. Y. (2017). Determination Of Optimum Polymeric Coagulant In *Palm Oil Mill Effluent* Coagulation Using Multiple-Objective Optimisation On The Basis Of Ratio Analysis (MOORA). *Environmental Science And Pollution Research*, 24(19), 15863–15869.
- Todar, K., (2008). Online Textbook of Bacteriology Bacteriology 330 Lecture Topics: *Pseudomonas aeruginosa*. Annual Reports of Wisconsin University.
- Triastuti, W.E., Agustiani, E., Sampurno, A.C.A.E., Fitria, Y.D., Fauziyah, H., Rahma, S., Rudianto, A.A.A., Amalia, F., & Damayanti, A. (2023). Analisa Kandungan Logam Berat Krom pada Air Sumur Menggunakan Spektrofotometri UV-VIS. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan" IPengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia*.
- Turista, D.D.R. (2017). Biodegradasi Limbah Cair Organik Menggunakan Kosorsium Bakteri Sebagai Bahan Penyusunan Buku Ajar Matakuliah Pencemaran Lingkungan. *Jurnal Pendidikan Bilogi Indonesia*, 3(2): 95-102
- Usman, M.H., & Dabai, A.I. (2021). Studies in Lignin Degradation Activity by *Pseudomonas aeruginosa* Isolated From Kware Lake. *Journal of Advances in Microbiology*, 21(3): 36-45
- Velan, P.R., Rajakumar, S., & Ayyasamy, P.M. (2012). Exploration of promising dye decolorizing bacterial strains obtained from erode and tirupur textile wastes. *International Journal of Environmental Sciences*. 2(4): 2470–2481.
- Vijayan, V., Joseuph, C.G., Taufiq-Yap, Y.H., Gamsau, J.A., Nga, J.L.H., Puma, G.L., Chia, P.W. (2024). Mineralization of *Palm Oil Mill Effluent* by advanced oxidation processes: A review on current trends and the way forward. *Environmenral Pollution*, 342, 123099
- Villaño D, García-Viguera C, Mena P. 2016. *Colors: health effects*. Encyclopedia of Food and Health. 265-272.
- Wahyuni, A.M., Afthoni, M.H., & Rollando. (2022). Pengembangan dan Validasi Metode Analisis Spektrofotometri UV-VIS Derivatif Untuk Deteksi Kombinasi Hidrokortison Asetat dan Nipagin pada Sediaan Krim. *SAINSBERTEK Jurnal Ilmiah Sains & Teknologi*, 3(1).

- Weng, C., Peng, X., & Han, Y. (2021). Depolymerization and Conversion of Lignin to Value-Added Bioproducts by Microbial and Enzymatic Catalysis. *Biotechnology for Biofuels*, 14, 1–30
- Wepukhulu, M., Wachira, P., Huria, N., Sifuna, P., Essuman, S., & Asamba, M. (2024). Optimization of Growth Conditions for Chlorpyrifos-Degrading Bacteria in Farm Soils in Nakuru Country, Kenya. *Hindawi BioMed Research Internasional*, 1-15
- Wu, W., Li, P., Huang, L., Wei, Y., Li, J., Zhang, L., & Jin, Y. (2023). The Role of Lignin Structure on Cellulase Adsorption and Enzymatic Hydrolysis. *Biomass*, 3 : 96-107
- Wu, D., Zhen, H., Zhang, X., Sun, K., & Lu, S. (2017). Remarkable Lignin Degradation in Paper Wastewater Over $\text{Fe}_2\text{O}_3/\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ Catalysts Using the Catalytic Wet Peroxide Oxidation Method. *Royal Society of Chemistry*, 7 : 37487-37494
- Xiong, Y. I., Zhao, Y., Ni, K., Shi, Y. U. E., & Xu, Q. (2020). Characterization of Ligninolytic Bacteria and Analysis of Alkali-Lignin Biodegradation Products. *Polish Journal of Microbiology*, 69(3), 339–347.
- Xu, R., Zhang, K., Liu, P., Han, H., Zhao, S., Kakade, A., Khan, D., Du, D., & Li, X. (2018). Lignin Depolymerization and Utilization by Bacteria. *Bioresour Technol*, 269 : 557-566
- Xu, Z., Qin, L., Cai, M., Hua, W., & Jin, M. (2018). Biodegradation of kraft lignin by newly isolated *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas putida*, and *Ochrobactrum tritici* strains. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(14), 14171–14181.
- Yadav, V.K., Gupta, N., Kumar, P., Dahti, M.G., Trith, V., Kha, S.H., Islam, S., *et al* . (2022). Recent Advances in Synthesis and Degradation of Lignin and Lignin Nanoparticles and Their Emerging Applications in Nanotechnology. *Materials*, 15 : 953
- Yadav, S., Gangwar, N., Mittal, P., Sharma, S., & Bhatnagar, T. (2014). Isolation, Screening and Biochemical Characterization of Laccase Producing Bacteria for Degradation of lignin. *Internasional Journal of Education and Science Research Review*, 1(3) : 17-21
- Yadav, V.K., Gupta, N., Kumar, P., Dahti, M.G., Trith, V., Kha, S.H., Islam, S., *et al*. (2022). Recent Advances in Synthesis and Degradation of Lignin and Lignin Nanoparticles and Their Emerging Applications in Nanotechnology. *Materials*, 15: 953.
- Yang, C., Yue, F., Cui, Y., Xu, Y., Shan, Y., Liu, B., Zhou, Y., & Lu, X. (2018). Biodegradation of Lignin By *Pseudomonas* sp. Q18 and the Characteriation of a Novel Bacterial DYP-type Peroxidase. *Journal Of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 45 : 913-927
- Yasid, M. (2014). Peranan isolat bakteri *indigenous* sebagai agen bioremediasi perairan yang terkontaminasi uranium. *Ganendra Majalah IPTEK Nuklir*, 17(1): 35–44.
- Yeber Ortiz, M.C., & Espinoza, C.S. (2016). Isolated *Pseudomonas aeruginosa* Bacterial Strain, Named CSMY-1 Deposited Under Accession Number Rgm2262, Which Has The Capacity To Degrade Pollutants Present In The Environment, In Soils Or Liquid Industrial Waste, And Arsenic - Containing Waste. United States Patent

- Zahra, H., Kurniawan, I., & Hakim, A. (2020). The Efficiency of Melanoidin Based-Waste Degradation with Different Biological Methods. *Current Biochemistry*, 7(2):52-60
- Zainith, S., Purchase, D., Dattatraya, G., Luiz, S., Ferreira, F. R., Bilal, M., & Bharagava, R. N. (2019). Isolation and Characterization of Lignin-Degrading Bacterium *Bacillus aryabhattai* from Pulp and Paper Mill Wastewater and Evaluation of Its Lignin-Degrading Potential. 3 *Biotech*, 9(3), 1–11.
- Zhang, W., & Liu, Z. (2022). Isolation and Performance Study of a Novel Lignin-Degrading Strain. *Chem. Biochem. Eng. Q.* 35 : 431–438
- Zulfahmi, I., Kandi, R.N., Huslina, F., Rahmawati, L., Muliari, M., Sumin, K.A., & Rahman, M.M. (2021). Phytoremediation of *Palm Oil Mill Effluent* (POME) Using Water Spinach (*Ipomea aquatica* Forsk). *Environmental Technology Innovation*, 21, 101260

LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Kadar Lignin sebelum perlakuan

1.1 Data Awal

- Berat baking paper kosong (W_1) = 11,3055 g
- Berat baking paper + sampel (W_2) = 63,7257 g
- Biomassa awal = 250 g
- Berat sampel untuk analisis = 1 g

1.2 Perhitungan berat pulp kering

$$\begin{aligned}\text{Berat sampel} &= W_2 - W_1 \\ &= 63,7257 - 11,3055 = 52,4202 \text{ g}\end{aligned}$$

1.3 Perhitungan persentase perolehan pulp

$$\begin{aligned}\% \text{ Pulp} &= \frac{\text{Berat pulp kering}}{\text{Biomassa awal}} \times 100\% \\ &= \frac{52,4202}{250} \times 100\% = 20,97\% = 21\%\end{aligned}$$

1.4 Perhitungan berat endapan lignin

- Berat kertas Whatman kosong (W_1) = 0,8410
- Berat kertas Whatman + residu (W_2) = 1,6459 g

$$\begin{aligned}\text{Berat endapan lignin} &= W_2 - W_1 \\ &= 1,6459 - 0,8410 = 0,8049\end{aligned}$$

1.5 Perhitungan persentase Lignin

$$\begin{aligned}\% \text{ Lignin} &= \frac{\text{Berat Endapan lignin}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{0,8049}{1} \times 100\% = 80,49\%\end{aligned}$$

Lampiran 2. Data Kadar Lignin setelah perlakuan pada setiap Konsentrasi Inokulum Hari ke-7

Konsentrasi Inokulum (%)	Berat pulp kering (gr)	Endapan lignin (gr)	% Lignin dalam gram
0% Ulangan 1	1,00	0,7540	75,40%
0% Ulangan 2	1,00	0,7420	74,20%
0% Ulangan 3	1,00	0,7265	72,65%
5% Ulangan 1	1,00	0,7161	71,61%
5% Ulangan 2	1,00	0,6899	68,99%
5% Ulangan 3	1,00	0,6498	64,98%
10% Ulangan 1	1,00	0,7154	71,54%
10% Ulangan 2	1,00	0,7025	70,25%
10% Ulangan 3	1,00	0,6984	69,84%
15% Ulangan 1	1,00	0,7456	74,56%
15% Ulangan 2	1,00	0,7394	73,94%
15% Ulangan 3	1,00	0,7269	72,69%
20% Ulangan 1	1,00	0,7665	76,65%
20% Ulangan 2	1,00	0,7580	75,80%
20% Ulangan 3	1,00	0,7432	74,32%
25% Ulangan 1	1,00	0,7725	77,25%
25% Ulangan 2	1,00	0,7659	76,59%
25% Ulangan 3	1,00	0,7662	76,62%
30% Ulangan 1	1,00	0,8056	80,56%
30% Ulangan 2	1,00	0,7931	79,31%
30% Ulangan 3	1,00	0,7821	78,21%

Contoh perhitungan kadar lignin menggunakan metode Klason:

Rumus:

$$\text{Kadar lignin (\%)} = \frac{\text{Berat endapan lignin (gr)}}{\text{Berat pulp kering (gr)}} \times 100\%$$

Contoh: $\frac{0,7540}{1} \times 100\% = 75,40\%$

Kadar lignin 0% Ulangan 1 sebesar 75,40%

Lampiran 3. Perhitungan rata-rata % kadar lignin tersisa Hari ke-7

Konsentrasi Inokulum	% Kadar Lignin Tersisa Hari ke 7			Rata-rata % kadar lignin tersisa
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
0%	75,40	74,20	72,65	74,08
5%	71,61	68,99	64,98	68,53
10%	71,54	70,25	69,84	70,54
15%	74,56	73,94	72,69	73,73
20%	76,55	75,80	74,32	75,56
25%	77,25	76,59	76,62	76,82
30%	79,81	79,01	78,21	79,01

Contoh perhitungan rata-rata % kadar lignin tersisa hari ke-7

Rumus :

$$\frac{Ulangan\ 1 + Ulangan\ 2 + Ulangan\ 3}{3}$$

Contoh : $\frac{71,61+68,99+64,98}{3} = 68,53\%$ (Rata-rata % kadar lignin tersisa pada konsentrasi inokulum 5% adalah sebesar 68,53%)

Lampiran 4. Persentase Degradasi Lignin pada setiap konsentrasi inokulum Hari ke-7

Persentase Degradasi Lignin pada setiap konsentrasi Inokulum (%)	
Konsentrasi Inokulum (%)	Degradasi Lignin (%)
0%	7,96%
5%	14,85%
10%	12,03%
15%	8,39%
20%	6,13%
25%	4,56%
30%	1,83%

Contoh Perhitungan Persentase Degradasi Lignin Hari ke-7

Rumus:

$$\% \text{ Degradasi} = \frac{L_{\text{Awal}} - L_{\text{akhir}}}{L_{\text{awal}}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Degradasi} = \frac{80,49 - 68,52}{80,49} \times 100\% = 14,85\%$$

Lampiran 5. Hasil Uji *One-Way* ANOVA Degradasi Lignin

5.1 Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		Degradasi Lignin (%)
N		21
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	8.0000
	Std. Deviation	4.39318
Most Extreme Differences	Absolute	.119
	Positive	.119
	Negative	-.057
Test Statistic		.119
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200 ^{c,d}

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

d. This is a lower bound of the true significance.

Diperoleh nilai Sig. (0,200) ($p > 0,05$), sehingga data degradasi lignin terdistribusi normal.

5.2 Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances			
Degradasi Lignin (%)			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.065	6	14	.124

Diperoleh nilai Sig. (0,124) ($p > 0,05$), sehingga varian antar kelompok perlakuan bersifat sama (**Homogen**)

5.3 Uji One Way ANOVA

ANOVA					
Degradasi Lignin (%)					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	331.333	6	55.222	14.142	.000
Within Groups	54.667	14	3.905		
Total	386.000	20			

Nilai sinifikansi (Sig.) sebesar 0,000 ($p < 0,05$), sehingga H_0 ditolak. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap degradasi lignin (%)

5.4 Uji DMRT

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Degradasi Lignin (%)

Duncan^a

Konsentrasi Inokulum	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
30%	3	2.0000		
25%	3	4.6667	4.6667	
20%	3		6.3333	
0%	3		8.0000	
15%	3		8.3333	
10%	3			12.0000
5%	3			14.6667
Sig.		.121	.053	.121

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Hasil uji DMRT menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata antar perlakuan yang ditunjukkan oleh pembagian kelompok pada subset homogen ($\alpha = 0,05$). Perlakuan yang berada pada subset yang berbeda menandakan adanya perbedaan yang signifikan terhadap degradasi lignin (%)

Lampiran 6. Data Absorbansi (OD₆₀₀) untuk menentukan fase eksponensial dengan membuat Kurva pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Waktu Inkubasi / jam	Absorbansi
0	0,1974
3	0,3326
6	0,3605
9	0,5466
12	0,7185
15	0,8071
18	0,8392
21	0,8704
24	0,9072

Lampiran 7. Data hasil pengukuran absorbansi (OD₄₀₀) Dekolorisasi Limbah POME pada berbagai tingkat pengenceran

Tingkat pengenceran	Hari ke-	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata Absorbansi
0%	Hari ke-0	0,1373	0,1348	0,1400	0,13605
0%	Hari ke-3	0,2386	0,2492	0,2417	0,243166667
0%	Hari ke-4	0,1482	0,1531	0,1558	0,152366667
0%	Hari ke-5	0,4821	0,0790	0,1180	0,4821
25%	Hari ke-0	2,0017	2,0571	2,0579	2,0389
25%	Hari ke-3	0,1807	0,173	0,167	0,173566667
25%	Hari ke-4	0,066	0,0963	0,0675	0,0766
25%	Hari ke-4	0,114	0,0138	0,003	0,0436
50%	Hari ke-0	1,9341	1,8831	1,9617	1,9263
50%	Hari ke-3	0,0925	0,0207	0,0472	0,053466667
50%	Hari ke-4	0,3859	0,0732	0,0045	0,154533333
50%	Hari ke-5	0,0102	0,0295	0,0239	0,0212
75%	Hari ke-0	1,8163	1,847	1,8571	1,840133333
75%	Hari ke-3	0,057	0,0014	0,0194	0,025933333
75%	Hari ke-4	0,1303	0,1093	0,1275	0,122366667
75%	Hari ke-5	0,2045	0,0828	0,0703	0,1192
100%	Hari ke-0	1,6703	1,509	1,357	1,5121
100%	Hari ke-3	0,1212	0,1275	0,1497	0,1328
100%	Hari ke-4	0,2361	0,1879	0,2022	0,208733333
100%	Hari ke-5	0,0104	0,1121	0,1131	0,078533333

Lampiran 8. Data perhitungan % Dekolorisasi limbah POME

Tingkat pengenceran	Hari ke-1 (A ₀)	Hari ke-3 (A ₃)	Hari ke-4 (A ₄)	Hari ke-5 (A ₅)
25%	0,00%	91,49%	96,24%	97,86%
50%	0,00%	97,22%	91,97%	98,90%
75%	0,00%	98,59%	93,35%	93,52%
100%	0,00%	91,21%	86,19%	94,80%

Rumus:

$$\% \text{ Dekolorisasi} = \frac{(\text{Absorbansi Awal} - \text{Absorbansi Akhir})}{\text{Absorbansi Awal}} \times 100$$

Contoh:

$$\begin{aligned} \% \text{ Dekolorisasi 25\% hari ke 3} &: \frac{(\text{Absorbansi Awal (H0)} - \text{Absorbansi Akhir (h-3)})}{\text{Absorbansi Awal (H-0)}} \times 100 \\ &: \frac{(2,0389 - 0,173566667)}{2,0389} \times 100 = 91,49\% \end{aligned}$$

Lampiran 9. Hasil uji *Two-Way* ANOVA Dekolorisasi limbah POME

9.1 Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		Absorbansi
N		48
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.532998
	Std. Deviation	.7668951
Most Extreme Differences	Absolute	.380
	Positive	.380
	Negative	-.244
Test Statistic		.380
Asymp. Sig. (2-tailed)		.000 ^c

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

Hasil uji normalitas Kolmogorov-Smirnov menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$), sehingga data tidak berdistribusi normal.

9.2 Uji Homogenitas

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: Absorbansi

F	df1	df2	Sig.
4.809	15	32	.000

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Faktor_Pengenceran * Hari + Faktor_Pengenceran + Hari

Hasil uji homogenitas menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$), sehingga varians data tidak homogen.

9.3 Uji *Two-Way* ANOVA

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Absorbansi

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	27.472 ^a	15	1.831	343.910	.000
Intercept	13.636	1	13.636	2560.612	.000
Faktor_Pengenceran * Hari	.488	9	.054	10.177	.000
Faktor_Pengenceran	.061	3	.020	3.819	.019
Hari	26.923	3	8.974	1685.199	.000
Error	.170	32	.005		
Total	41.278	48			
Corrected Total	27.642	47			

a. R Squared = .994 (Adjusted R Squared = .991)

Hasil uji Two-Way ANOVA menunjukkan bahwa faktor tingkat pengenceran ($F=3,819$; $p=0,01$), waktu inkubasi ($F=1685,199$; $p=0,00$), serta interaksi keduanya ($F=10,177$; $p=0,000$) berpengaruh signifikan terhadap nilai absorbansi ($p<0,05$). Oleh karena itu, analisis dilanjutkan dengan uji Duncan's Multiple Range Test (DMRT). Nilai R Squared = 0,994 menunjukkan bahwa 99,4% variasi absorbansi dapat dijelaskan oleh kedua faktor tersebut beserta interaksinya.

9.4 Uji DMRT

Post Hoc Tests

Faktor Pengenceran

Homogeneous Subsets

Absorbansi

Duncan^{a,b}

Faktor Pengenceran	N	Subset	
		1	2
100%	12	.483042	
75%	12	.526908	.526908
50%	12	.538875	.538875
25%	12		.583167
Sig.		.085	.083

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .005.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

b. Alpha = .05.

Hasil uji DMRT menunjukkan bahwa perlakuan pengenceran terbagi menjadi dua kelompok (subset). Pengenceran 100% berbeda nyata dengan perlakuan lainnya (subset 1), sedangkan pengenceran 75%, 50%, dan 25% tidak berbeda nyata satu sama lain (subset 2) dan menghasilkan dekolorisasi yang lebih tinggi.

Hari Ke

Homogeneous Subsets

Absorbansi

Duncan^{a,b}

Hari Ke	N	Subset		
		1	2	3
Hari Ke-5	12	.065633		
Hari Ke-3	12	.096442	.096442	
Hari Ke-4	12		.140558	
Hari Ke-0	12			1.829358
Sig.		.309	.148	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .005.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

b. Alpha = .05.

Hasil uji DMRT menunjukkan bahwa waktu inkubasi terbagi menjadi tiga kelompok (subset). Hari ke-0 berbeda nyata dengan seluruh perlakuan (subset 3) karena merupakan kondisi awal sebelum dekolorisasi. Hari ke-5 dan ke-3 menghasilkan

dekolorisasi tertinggi dan tidak berbeda nyata (subset 1), sedangkan hari ke-4 berada diantara keduanya (subset 1 dan 2)

Lampiran 10. Dokumentasi penelitian

No	Dokumentasi	Keterangan
1.		Outlet Pengambilam Limbah <i>Palm Oil</i> Mill Effluent
2.		Pengukuran Ph Limbah <i>Palm Oil</i> Mill Effluent
3.		Pengukuran Suhu Limbah <i>Palm Oil</i> Mill Effluent
4.		Proses Pengambilan Limbah <i>Palm Oil</i> Mill Effluent

No	Dokumentasi	Keterangan
5.		Peremajaan Isolat Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
6.		Isolat Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pada media L-MSM
7.		Proses Degradasi lignin
8.		Inkubasi dan Homogenisasi sampel
9.		Pengeringan sampel yang sudah ditambah inoculum bakteri

No	Dokumentasi	Keterangan
10.		Penimbangan sampel kering hingga 1 gram untuk metode klason
11.		Pencampuran H_2SO_4 dengan sampel
12.		Maserasi sampel 2-3 menit dan perendaman dalam air es selama 2 jam
13.		Pemanasan sampel kurang lebih 4 jam

No	Dokumentasi	Keterangan
14.		Penyaringan sampel
15.		Pengeringan Kembali sampel yang sudah disaring
16.		Penimbangan sampel
17.		Proses Dekolorisasi
18.		Pengambilan sampel dekolorisasi hari ke- 0, ke-3, ke-4, Dan ke- 5

No	Dokumentasi	Keterangan
19.		Sentrifuge dan Spektrofotometer sampel Dekolorisasi

Lampiran 11. Bukti Konsultasi Pembimbing Biologi dan Agama



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
 Jalan Gayamsa Nomor 50, Telpone (0341) 551354, Fax (0341) 572533
 Website: <http://www.uin-malang.ac.id> Email: info@uin-malang.ac.id

JURNAL BIMBINGAN SKRIPSI/TESIS/DISERTASI

IDENTITAS MAHASISWA

NIM : 220602110055
 Nama : AIDAH AYA MUFIDAH
 Fakultas : SAINS DAN TEKNOLOGI
 Jurusan : BIOLOGI
 Dosen Pembimbing 1 : Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI, M.Si
 Dosen Pembimbing 2 : Prof. Dr. H. MUNIRUL ABIDIN, M.Ag
 Judul Skripsi/Tesis/Disertasi : POTENSI BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* DALAM MENDEGRADASI LIGNIN DAN MENDEKOLORISASI WARNA LIMBAH PALM OIL MILL EFFLUENT (POME)

IDENTITAS BIMBINGAN

No	Tanggal Bimbingan	Nama Pembimbing	Deskripsi Proses Bimbingan	Tahun Akademik	Status
1	26 Februari 2025	Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI, M.Si	Pengaturan mengenai rencana penelitian yang akan dilakukan yaitu tentang "Bioremediasi" dan pencarian lokasi untuk pengambilan sampel	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
2	14 April 2025	Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI, M.Si	Penemuan lokasi pengambilan sampel dan presentasi terkait hasil informasi yang di dapat dari lokasi pengambilan sampel tersebut	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
3	04 Agustus 2025	Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI, M.Si	Konsultasi terkait pembagian parameter dan pengkajian masalah dari proyek yang diambil	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
4	11 September 2025	Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI, M.Si	Pengkajian topik/ judul penelitian yaitu "Potensi Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Pada Proses Biodegradasi Lignin Dalam Limbah Cair Pabrik Kelapa Sawit (POME) Kabupaten Blitar, Jawa Timur"	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
5	13 Oktober 2025	Prof. Dr. H. MUNIRUL ABIDIN, M.Ag	Pengkajian naskah dan konsultasi terkait bab I dan II bagian Integrasi dan revisi	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
6	21 Oktober 2025	Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI, M.Si	Pengkajian naskah dan Presentasi Bab I, II, dan III	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
7	29 Oktober 2025	Prof. Dr. H. MUNIRUL ABIDIN, M.Ag	Pengkajian revisi bagian Integrasi bab I dan II, sekaligus ACC	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
8	28 November 2025	Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI, M.Si	Pengkajian revisi bab I, II, III dan perubahan judul "Potensi bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dalam mendegradasi dan mendekolorisasi Limbah Palm Oil Mill Effluent (POME)"	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
9	03 Desember 2025	Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI, M.Si	ACC Bab I, Bab II, dan Bab III	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
10	06 Maret 2026	Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI, M.Si	Bab III yaitu Metode terkait peremajaan bakteri dan proses degradasi lignin	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
11	24 April 2026	Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI, M.Si	Bab III metode terkait pembuatan turba bakteri	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
12	25 Mei 2026	Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI, M.Si	Konsultasi bab 4 hasil dan pembahasan	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
13	26 Mei 2026	Prof. Dr. H. MUNIRUL ABIDIN, M.Ag	Konsultasi integrasi Bab 4	Genap 2026/2027	Sudah Dikoreksi
14	29 Mei 2026	Prof. Dr. H. MUNIRUL ABIDIN, M.Ag	Konsultasi Final Bab 4 terkait integrasi	Genap 2026/2027	Sudah Dikoreksi
15	02 Juni 2026	Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI, M.Si	Konsultasi Bab IV dan V	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
16	02 Juni 2026	Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI, M.Si	ACC Naskah Skripsi	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi

Telah disetujui
 Untuk mengajukan ujian Skripsi/Tesis/Disertasi

Dosen Pembimbing 2



Prof. Dr. H. MUNIRUL ABIDIN, M.Ag

Malang, _____
 Dosen Pembimbing 1



Prof. Dr. Hj. ULFAH UTAMI, M.Si



Lampiran 12. Bukti Cek Plagiarisme



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp/ Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

Form Checklist Plagiasi

Nama : Aidah Alya Mufidah
NIM : 220602110055
Judul : Potensi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dalam Mendegradasi Lignin
Dan Mendekolorisasi Warna Limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME)

No	Tim Check plagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc	23 2	
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si		
4	Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc		
5	Maharani Retna Duhita, M.Sc., PhD.Med.Sc		

Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi



Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si
NIP. 19671113 199402 2 001