

## **Analisa Degradasi Kandungan Senyawa Asam Spent Bleaching Earth Menggunakan Bakteri Lipolitik (*Bacillus cereus*) dengan Metode Gas Chromatogram-Mass Spectrometer (GC-MS)**

### ***Degradation Analysis of Spent Bleaching Earth Compounds Using Lipolytic Bacteria (*Bacillus cereus*) with the Gas Chromatogram-Mass Spectrometer (GC-MS) Method***

**Maria Lusia**

Program Studi Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik dan Komputer, Universitas Baturaja  
email: lusia.maria16@gmail.com

#### **ABSTRAK**

Pengolahan *Crude Palm Oil* (CPO) menjadi minyak goreng melalui beberapa tahapan. Pada tahap pemurnian dihasilkan limbah padat yaitu *Spent Bleaching Earth* (SBE). SBE yang dibuang langsung ke lingkungan berpotensi mencemari lingkungan dikarenakan dalam limbah SBE terkandung residu minyak yang sifatnya mudah teroksidasi dan terbakar. SBE harus diolah terlebih dahulu sebelum dibuang ke lingkungan. Salah satu cara untuk mengelola limbah SBE adalah dengan bioremediasi. Bioremediasi merupakan metode membersihkan lingkungan dari bahan pencemar dengan menggunakan agen biologis, seperti bakteri, jamur, dll. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa asam lemak yang terbentuk dalam limbah SBE (sebelum diinokulasi) dan akhir (setelah diinokulasi) bioremediasi berdasarkan analisis GC-MS. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan volume inokulum bakteri *Bacillus cereus* sebagai perlakuan, terdiri dari 6 taraf perlakuan yaitu 0 mL kg<sup>-1</sup>, 25 mL kg<sup>-1</sup>, 50 mL kg<sup>-1</sup>, 75 mL kg<sup>-1</sup>, 100 mL kg<sup>-1</sup> dan 125 mL kg<sup>-1</sup>. Sampel yang diambil untuk dilakukan analisis GC-MS yaitu pada perlakuan 0 mL kg<sup>-1</sup>, 50 mL kg<sup>-1</sup>, 75 mL kg<sup>-1</sup>. Pengamatan dilakukan pada kromatogram gas yang dihasilkan oleh alat GC-MS pada setiap sampel yang dianalisis. Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung dalam limbah SBE adalah asam lemak jenuh dan tak jenuh. Perlakuan 75 mL kg<sup>-1</sup> merupakan perlakuan terbaik dalam proses bioremediasi, dikarenakan terjadi degradasi senyawa asam terbanyak dalam limbah SBE.

Kata Kunci : *Bacillus cereus*, Spent Bleaching Earth (SBE), bioremediasi, degradasi minyak.

#### **ABSTRACT**

Processing Crude Palm Oil (CPO) into cooking oil through several stages. Spent Bleaching Earth (SBE) is a solid waste generated in the CPO refining step into cooking oil. SBE that is disposed of environmentally has potential to environmentally pollute due to waste SBE contained oil residues that are easily oxidized and burned. Therefore, SBE must be processed first before disposal of the environment. The alternative management of SBE waste is by bioremediation. Bioremediation is a method of cleaning the environment from contaminants by using biological agents, such as bacteria, fungi, etc. This research uses *Bacillus cereus*, the lipolytic bacteria as a biological agent. The research aims to determine the effect of variation in bacterial inoculum volume of *Bacillus cereus* on growth optimization and bacterial performance in degrading oil during bioremediation process. This research uses a Completely Randomized Design with the volume of *Bacillus cereus* bacteria inoculum as a treatment, consisting of 6 treatment levels, which are 0 mL kg<sup>-1</sup>, 25 mL kg<sup>-1</sup>, 50 mL kg<sup>-1</sup>, 75 mL kg<sup>-1</sup>, 100 mL kg<sup>-1</sup> and 125 mL kg<sup>-1</sup>. Each treatment level was replicated 3 times, so that 18 experimental units were obtained. Sample was taken for

GC-MS analyzing was 0 mL kg<sup>-1</sup>, 50 mL kg<sup>-1</sup>, 75 mL kg<sup>-1</sup>. Observation was done by seeing the result of chromatogram in GC-MS measurement. The results of this study indicate that the acid compounds contained in SBE are saturated fatty acids and unsaturated acids. The 75 mL kg<sup>-1</sup> treatment is the best treatment in SBE bioremediation, due to the loss of the most fatty acid compounds.

Keywords—*Bacillus cereus*, Spent Bleaching Earth (SBE), bioremediation, oil degradation

## PENDAHULUAN

CPO merupakan bahan baku yang berasal dari inti minyak sawit. Spent Bleaching Earth (SBE) merupakan limbah padat yang dihasilkan dari proses pemurnian Crude Palm Oil (CPO) menjadi minyak goreng. Produksi minyak goreng Indonesia dari tahun 2009 hingga 2013 meningkat rata-rata 16,5% per tahun dari 7,13 juta ton per tahun menjadi 13,0 juta ton per tahun (CDMI, 2014). Produksi minyak goreng yang meningkat diikuti dengan peningkatan limbah SBE. Menurut Peraturan Pemerintah No. 18 (1999), SBE merupakan bahan beracun dan berbahaya (B3) karena SBE mengandung minyak dan residu asam, selanjutnya dikatakan bahwa limbah SBE harus diolah oleh industri yang menghasilkan limbah itu sendiri dengan mengikuti dan menyesuaikan dengan aturan yang ada.

Partikel SBE mengandung rata-rata 20-30% minyak (Kheang *et al.*, 2006). Salah satu alternatif pengolahan limbah SBE adalah dengan metode bioremediasi yaitu dengan memanfaatkan agen hayati seperti bakteri, jamur dll. Prinsip kerjanya

## METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan dari bulan Mei 2017 hingga bulan September 2017. Sampel limbah SBE diambil langsung dari cerobong pembuangan dalam proses pembersihan CPO. Isolat bakteri yang digunakan adalah *Bacillus cereus*. Aplikasi volume inokulum *Bacillus cereus* pada bioreaktor dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap dengan 6 taraf perlakuan, yaitu 0 mL kg<sup>-1</sup>, 25 mL kg<sup>-1</sup>, 50 mL kg<sup>-1</sup>, 75 mL kg<sup>-1</sup>, 100 mL kg<sup>-1</sup>, 125 mL kg<sup>-1</sup>, masing-masing

adalah mengoptimalkan kinerja bakteri dalam mendegradasi minyak. Bakteri yang digunakan dalam pereduksi minyak diklasifikasikan dalam bakteri lipolitik. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Widjajanti dan Munawar (2015), menunjukkan bahwa salah satu bakteri yang dapat mereduksi minyak adalah *Bacillus cereus*. Kemampuan bakteri ini dalam mereduksi minyak mencapai sebesar 49,06%.

Penurunan kandungan minyak yang terdapat dalam limbah SBE, dapat dianalisa dengan menggunakan alat Gas Chromatogram-Mass Spectrometer (GC-MS). Hal ini dapat ditunjukkan dengan adanya pengurangan atau hilangnya beberapa senyawa asam dalam limbah SBE. Hendrayana (1994), menyatakan jumlah senyawa yang terdapat dalam ekstrak ditunjukkan oleh jumlah puncak (peak) pada kromatogram, sedangkan nama atau jenis senyawa yang ada diinterpretasikan berdasarkan data spektra dari setiap puncak tersebut dengan metode pendekatan pustaka pada database GC-MS.

diaplikasikan pada 2 kg limbah SBE, setiap level pengolahan diulang 3 kali. Total ada 18 unit percobaan. Bak plastik digunakan sebagai bioreaktor. Setelah selesai proses bioremediasi, diambil sampel sebanyak 25 gr pada masing-masing perlakuan mewakili, yaitu perlakuan 0 mL kg<sup>-1</sup>, 50 mL kg<sup>-1</sup> dan 75 mL kg<sup>-1</sup>. Sampel ini kemudian dianalisa di Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Gadjah Mada. Secara garis besarnya cara kerja dalam menganalisa sampel SBE dengan alat GC-MS adalah sebagai berikut:

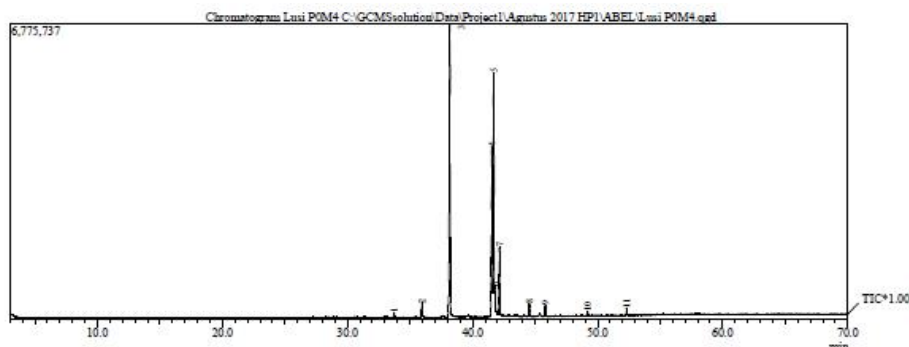
- 25 g sampel SBE diekstrak menggunakan metanol heksan 1:1 25 mL diaduk selama 4 jam dan disonikasi selama 60 menit
- kemudian dicentrifuge untuk memisahkan padatan dan larutan
- larutan yang didapat, dipisakan kembali dan diambil lapisan organikny, kemudian diuapkan sampai volume 2 mL
- ambil 200  $\mu\text{L}$  larutan dan ditambah BF<sub>3</sub> Met 500 uL, kemudian direfluks selama 60 menit pada suhu 60°C (dengan pengadukan)
- campuran yang didapat diekstrak dengan heksan, diambil lapisan organikny dan diuapkan
- hasil penguapan tersebut dimasukkan kedalam alat GC-MS

### HASIL DAN PEMBAHASAN

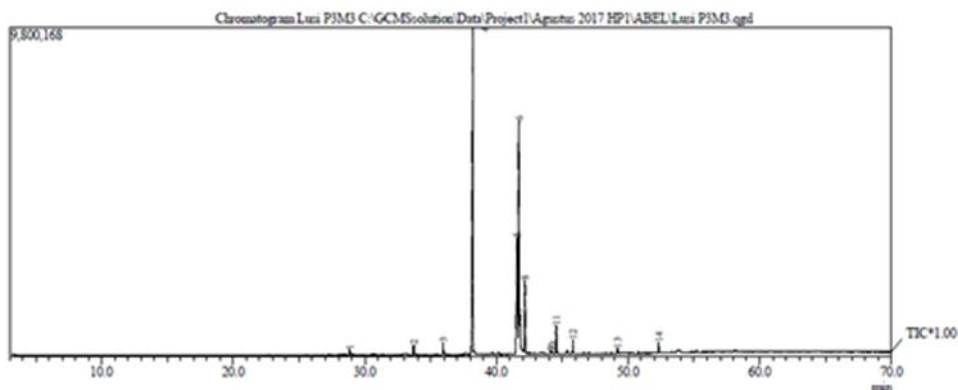
Kromatografi gas dilakukan dengan menggunakan alat GC jenis QP-2010S Shimadzu dengan detektor FID dan suhu 300°C, kolom GC adalah kapiler kaca (panjang 30 m dan diameter 0,25 mm) dengan tekanan 15.0 kPa dan aliran kolom 0,56 ml/menit, sedangkan gas pembawa sampel yang akan dianalisis yaitu helium. Identifikasi senyawa yang

terkandung dalam limbah SBE dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa dalam limbah yang tidak diinokulasi bakteri *Bacillus cereus* dan limbah yang diinokulasi bakteri *Bacillus cereus* dan dianggap sebagai perlakuan terbaik dalam proses degradasi.

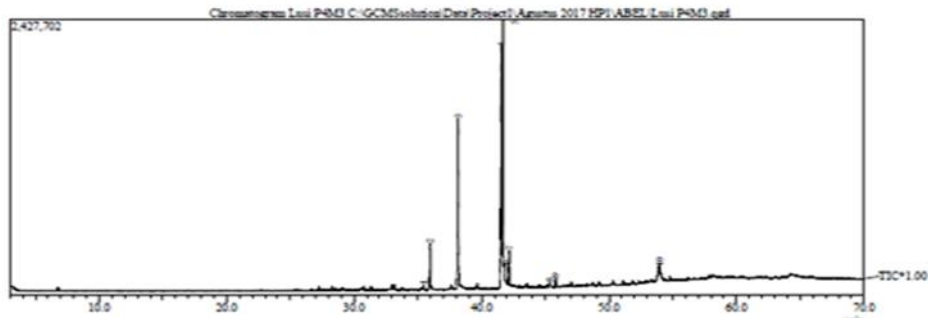
Hasil kromatogram gas analisis GC-MS limbah SBE pada perlakuan yang tidak diinokulasi dan perlakuan yang diinokulasi bakteri *Bacillus cereus* disajikan pada Gambar 3,4,dan 5.



Gambar 3. Kromatogram perlakuan tanpa inokulasi (0 mL Kg<sup>-1</sup>)



Gambar 4. Kromatogram pada perlakuan 50 mL kg<sup>-1</sup>



Gambar 5. Kromatogram gas pada perlakuan 75 mL kg<sup>-1</sup>

Hasil analisis GC-MS terhadap senyawa yang terkandung dalam limbah SBE pada perlakuan 0 mL kg<sup>-1</sup>, 50 mL kg<sup>-1</sup> dan 75 mL kg<sup>-1</sup> disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Senyawa hasil analisis GC-MS limbah SBE pada perlakuan 0 mL kg<sup>-1</sup>, 50 mL kg<sup>-1</sup> dan 75 mL kg<sup>-1</sup>.

0		50		75		Nama senyawa
Puncak	Waktu Retensi	Puncak	Waktu Retensi	Puncak	Waktu Retensi	
1	33,72	2	33,72	-	-	Asam Tetradecanoic
2	35,94	3	35,95	2	35,95	Isopropyl myristate
3	38,17	4	38,20	3	38,14	Asam Octadecanoic
4	41,54	5	41,54	4	41,53	Asam Octadecadienoic
5	41,69	6	41,71	5	41,68	Asam Octadecenoic
6	41,78	7	41,79	6	41,77	Asam Octadecenoic
7	42,15	8	42,16	7	42,15	Asam Octadecenoic
8	44,55	11	44,55	-	-	Undecanol
9	45,81	12	45,81	9	45,81	Asam Eicosanoic
10	49,19	13	49,19	-	-	Asam Docosanoic
11	52,32	14	52,32	-	-	Asam Tetracosanoic
-	-	1	28,84	-	-	Asam Dodecanoic
		9	44,13	-	-	Asam Octadecanoic
		10	44,22	-	-	Asam butenoic
				1	35,46	Tricosane
				8	45,35	Hexyl-octanol
				10	52,94	Dideutero Octadecanal

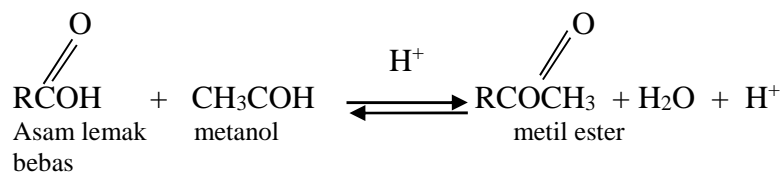
Berdasarkan Tabel 6, dapat diketahui bahwa senyawa yang terdapat dalam limbah SBE terdiri dari senyawa asam lemak jenuh dan tak jenuh. Menurut Rasyid *et al.* (2014), asam lemak jenuh yang terkandung dalam asam lemak bebas CPO adalah asam laurat (dodekanoat), asam miristat (tetradekanoat), asam palmitat (hexadekanoat), dan asam stearat

(oktadekanoat). Sedangkan asam lemak tak jenuh adalah asam oleat (Cis-9-oktadekanoat) dan asam linoleat (Cis-9-12-oktadekanoat). Hariyadi (2014), menambahkan komposisi rata-rata asam lemak terhadap asam lemak total pada minyak kelapa sawit adalah asam laurat 0,2%, asam miristat 1,1 %, asam palmitat 44 %, asam palmitoleat 0,1%, asam stearat

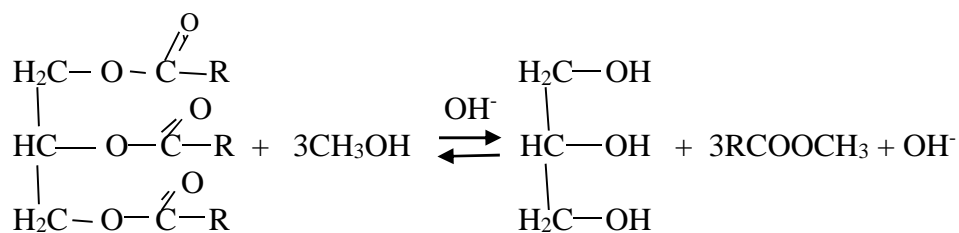
4,5%, asam oleat 39,2%, asam linoleat 10,1%, asam linolenat 0,4% dan asam arakidonat 0,4%. Hasil analisis GC-MS juga menunjukkan senyawa yang terdapat dalam SBE pada perlakuan awal (0 mL kg<sup>-1</sup>) adalah 11 senyawa, pada perlakuan 50 mL kg<sup>-1</sup>, jumlah senyawa yang terdapat dalam limbah SBE ada 14 senyawa, dan pada perlakuan 75 mL kg<sup>-1</sup> menunjukkan senyawa yang terkandung dalam limbah SBE ada 10 senyawa. Hasil analisis GC-MS pada Tabel 6. juga menunjukkan bahwa pada waktu retensi yang sama, senyawa yang dihasilkan juga sama, meskipun puncaknya berbeda. Hal ini menjadi dasar pengidentifikasian

senyawa dengan menggunakan perangkat GC-MS.

Senyawa-senyawa yang terdapat pada SBE berdasarkan analisis GC-MS, merupakan senyawa methyl ester antara lain metil miristat, metil palmitat, metil stearat, metil oleat dan metil linoleat. Senyawa metil ester yang diperoleh sesuai dengan kandungan asam lemak yang terdapat pada komposisi minyak kelapa sawit (Tabel 1). Senyawa metil ester yang terbentuk merupakan hasil dari reaksi esterifikasi dan transesterifikasi minyak yang terdapat dalam SBE. Reaksi esterifikasi dan transesterifikasi sebagai berikut:



Gambar 6. Reaksi Esterifikasi asam bebas menjadi metil ester dengan katalis asam



Gambar 7. Reaksi Transesterifikasi Trigliserida menjadi metil ester dengan katalis basa

Berdasarkan waktu retensi (Tabel 6) 33,72, 49,19 dan 52,32 terlihat bahwa pada perlakuan 0 mL kg<sup>-1</sup> dan perlakuan 50 mL kg<sup>-1</sup> terdapat kandungan senyawa asam yang sama yaitu asam miristat (asam tetradekanoic), asam docosanoic dan asam tetracosanoic, dan pada perlakuan 75 mL kg<sup>-1</sup> tidak terdapat kandungan senyawa asam yang sama. Diduga hal ini terjadi, disebabkan karena adanya proses degradasi pada yang dilakukan oleh bakteri *Bacillus cereus*. Reaksi yang terjadi yaitu reaksi hidrolisa enzimatik. Proses degradasi terjadi pada reaksi hidrolisis dengan bantuan enzim lipase. Enzim lipase ini berperan sebagai katalis,

dimana enzim ini memisahkan lemak (triacylglycerol) menjadi monogliserida dan asam lemak. Menurut Fried & Hademenos (2007), proses degradasi asam lemak dilakukan pada tahapan siklus Krebs sehingga menghasilkan CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O pada proses pemecahannya.

Menurut Oktavia *et al.* (2012), turunnya kadar lemak disebabkan oleh lemak yang terhidrolisis menjadi gliserol dan asam lemak bebas. Asam lemak bebas ini mudah mengalami kerusakan sehingga mengakibatkan kadar lemak minyak menurun. Lemak akan terpecah oleh enzim lipase menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana. Menurut Brockerhoff dan Jensen (1974), kadar

lemak yang mengalami penurunan disebabkan karena terjadinya proses lipolitik yang menyebabkan terurainya lemak menjadi asam lemak rantai pendek, karbonil dan senyawa volatil sebagai asam lemak bebas.

### KESIMPULAN

Hasil analisis GC-MS pada perlakuan 0 mL kg<sup>-1</sup>, 50 mL kg<sup>-1</sup>, dan 75 mL kg<sup>-1</sup>, menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung dalam limbah SBE merupakan senyawa asam lemak jenuh dan tak jenuh. Asam lemak jenuh terdiri dari asam palmitat, asam stearat, asam miristat, dan asam lemak tak jenuh, yang terdiri dari asam oleat dan linoleat. Hilangnya senyawa asam pada perlakuan yang diinokulasi bakteri, menunjukkan bahwa telah terjadi proses degradasi yang dilakukan oleh bakteri *Bacillus cereus*.

### DAFTAR PUSTAKA

- Benson, H. 2002. *Microbiological Application : Laboratory Manual in General Microbiology*. 8<sup>th</sup> Edition. Mc. Graw-Hill. North America.
- CDMI Consulting. 2014. <http://www.cdmione.com/product.php#CPO2014>. Opened 20 Desember 2016.
- Fried, G and Hademenos, G. 2007. *Biologi* 2<sup>th</sup> edition. Jakarta: Erlangga. 1-396.
- Hariyadi, P. 2014. Sepuluh Karakter Minyak Sawit. *Artikel gabungan Pengusaha Kelapa Sawit Indonesia* (GAPKI). 1-3 hlm.
- Hendrayana, S. 1994. *Kimia Analitik Instrumen*. IKIP Semarang Press. Semarang.
- Kheang, S. I. Cheng, S. F. Choo, Y. M. Dan Ma Ah Ngan. 2006. A Study Of Residual Oils Recovery From Spent Bleaching Earth. Their Characteristics and Applications. *American Jurnal Of Applied Sciences*. 3(10): 2063-2067. Wijs dan Hanus.
- Oktavia, A.D. Mangunwidjaja, D. Wibowo, S. 2012. Pengelolaan Limbah Cair Perikanan Menggunakan Konsorsium Mikroba Indegenous Proteoolitik dan Lipolitik. *Jurnal Agroiitek* 6(9): 65-71.
- Peraturan Pemerintah Nomor 85 Tahun 1999 Tentang: Perubahan Atas Peraturan Pemerintah No.18 Tahun 1999 Tentang Pengelolaan Limbah Bahan Berbahaya dan Beracun. Jakarta: 1-38 hlm.
- Rasyid, R., Kalsum, U., Malik, R., Priyono, D., dan Albar, A. 2014. Pengaruh Zat Aditif Urea Terhadap Reaksi Transesterifikasi. *Jurnal Valensi*. 4 (1): 25-29.