

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Karakteristik Limbah SBE (*Spent Bleaching Earth*)

Limbah SBE yang digunakan dalam penelitian ini merupakan limbah padat dari pabrik industri minyak kelapa sawit PT. Tunas Baru Lampung Tbk Cabang Palembang yang terletak di KM 14 Kabupaten Banyuasin. Berdasarkan analisis yang dilakukan pada limbah SBE jika disesuaikan dengan kriteria pada tanah menunjukkan hasil seperti yang disajikan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Analisis limbah SBE

Analisis	Satuan	Hasil*	Kriteria**
pH aktual	-	3,11	Sangat masam
C-organik	g kg ⁻¹	105,4	Sangat tinggi
N total	g kg ⁻¹	1,1	Sangat rendah
P total	g kg ⁻¹	3,0	Sangat rendah
K total	g kg ⁻¹	0,5	Sangat rendah
Kadar minyak	g kg ⁻¹	70	> 0,375 ***

Sumber : *) Lab Kimia, Biologi, dan Kesuburan Tanah, Jurusan Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya, Indralaya (2017)

**) Kriteria kesuburan tanah berdasarkan Balai Penelitian Tanah (2005)

***) Peraturan menteri lingkungan hidup Republik Indonesia nomor 5 tahun 2014 beban pencemaran paling tinggi untuk baku mutu air limbah sebesar 0,375 g kg⁻¹

Berdasarkan Tabel 4.1 limbah SBE memiliki pH yang sangat masam (3,11) bila dibandingkan dengan kriteria tanah pada umumnya. Menurut Suriani *et al.* (2013), salah satu faktor penting yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah derajat keasaman. Nilai pH berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri berkaitan dengan aktivitas enzim. Enzim dibutuhkan oleh bakteri untuk mengkatalis reaksi-reaksi yang berhubungan dengan pertumbuhan bakteri. Apabila pH dalam suatu medium atau lingkungan tidak optimal bagi aktivitas enzim maka akan mengganggu kerja enzim-enzim tersebut dan akhirnya mengganggu pertumbuhan bakteri itu sendiri. Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan pH media adalah dengan pemberian kapur. Berdasarkan Tabel 4.1 nilai C-organik pada limbah SBE sangat tinggi (105,4 g kg⁻¹). Berdasarkan penelitian Krisyanti (2011), bahwa kadar karbon terikat yang

terkandung dalam limbah SBE bernilai 284,6 g kg⁻¹ berat kering. Kadar karbon terikat merupakan sejumlah karbon yang masih tersisa setelah semua kadar abu dan volatil menguap saat dikeringkan pada temperatur tinggi. Menurut Riniarti (2012), jenis bahan organik yang berbeda akan memberikan pengaruh yang berbeda terhadap sifat fisika, kimia, dan biologi. Karbon merupakan sumber makanan mikroorganisme, sehingga keberadaan C-organik akan memacu kegiatan mikroorganisme dalam meningkatkan proses dekomposisi dan juga reaksi-reaksi yang memerlukan bantuan mikroorganisme (Afandi, 2015). Karbon dibutuhkan oleh mikroorganisme sebagai sumber makanannya, akan tetapi nilai C-organik yang terlalu tinggi akan menyebabkan pengaruh lain seperti penurunan nilai pH. Atmojo (2003), menyatakan bahwa bahan organik yang belum matang atau masih mengalami dekomposisi seperti halnya limbah SBE akan menyebabkan penurunan nilai pH. Hal ini dikarenakan selama proses dekomposisi bahan organik akan melepaskan asam-asam organik yang menyebabkan turunnya nilai pH.

Pada Tabel 4.1 nilai unsur hara yang terkandung pada limbah SBE seperti N total, P total, dan K total secara berurutan sangat rendah (1,1; 3,0; dan 0,5 g kg¹). Rendahnya kandungan unsur N, P dan K juga akan mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Menurut Hana (2010), bakteri lipolitik merupakan bakteri yang mampu menghidrolisis lemak. Oleh karena itu adanya kandungan minyak pada limbah SBE pada penelitian ini sebesar 70 g kg⁻¹ berpotensi menjadi sumber makanan bagi bakteri lipolitik yang dalam hal ini adalah *Bacillus cereus*.

4.2. Simulasi pH pada Limbah SBE

Simulasi pH pada limbah SBE merupakan suatu upaya dalam menentukan dosis kapur yang tepat untuk mendapatkan nilai pH yang optimum bagi bakteri. Menurut Naryaningsih (2005), bakteri lipolitik *Bacillus cereus* tumbuh optimum pada pH 5,5-8,5. Oleh karena itu dosis kapur yang akan digunakan sesuai dengan nilai pH yang optimum bagi bakteri *Bacillus cereus*. Berdasarkan hasil uji F (Lampiran 3), terdapat pengaruh pemberian dosis kapur terhadap kenaikan pH pada limbah SBE. Perbedaan peningkatan nilai pH pada tiap-tiap perlakuan pemberian dosis kapur disajikan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2. Hasil uji Duncan pengaruh dosis kapur kalsit (CaCO_3) terhadap derajat keasamaan limbah SBE

Dosis kapur kalsit pada limbah SBE	Nilai pH
0 g kg^{-1} (kontrol)	3,11 a
20 g kg^{-1}	5,53 b
40 g kg^{-1}	5,65 c
60 g kg^{-1}	5,69 cd
80 g kg^{-1}	5,76 cd
100 g kg^{-1}	5,77 d

Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama berarti berbeda tidak nyata pada taraf uji 5%

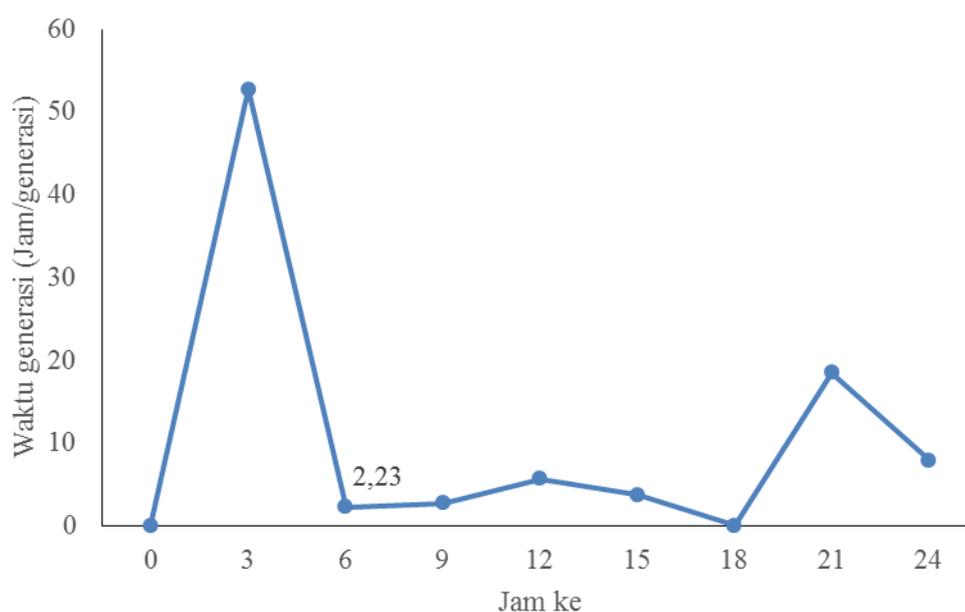
Berdasarkan Tabel 4.2 semakin banyak dosis kapur yang diberikan maka nilai derajat keasaman pH ikut naik, meski tidak selalu berbeda nyata. Perlakuan tanpa pemberian dosis kapur (kontrol) pada limbah SBE menunjukkan pH yang paling rendah dan berbeda nyata dari dosis kapur lainnya. Pemberian dosis kapur 20 g kg^{-1} pada limbah SBE, nilai pH nya berbeda nyata dengan dosis kapur 40, 60, 80, dan 100 g kg^{-1} . Kemudian pada pemberian dosis kapur 40 g kg^{-1} nilai pH berbeda tidak nyata dengan dosis 60, 80 dan 100 g kg^{-1} . Hal ini dikarenakan adanya asam-asam organik dari limbah SBE yang mempengaruhi perubahan pH. Menurut Aryanti *et al.* (2016), bahwa rendahnya pH pada tanah gambut dipengaruhi oleh asam-asam organik dalam jumlah yang tinggi seperti asam humat dan asam fulvat. Oleh sebab itu pemberian dosis kapur yang berbeda tidak mempengaruhi kenaikan pH secara signifikan. Berdasarkan Tabel 4.2 dipilih dosis kapur 20 g kg^{-1} limbah SBE, karena pada dosis ini pH sudah optimum untuk pertumbuhan bakteri dan tidak ada peningkatan pH yang nyata dengan pemberian dosis kapur yang lebih tinggi.

Dari simulasi pH yang telah dilakukan pemberian dosis kapur 20 g kg^{-1} , dengan nilai pH (5,53) telah mencapai dosis optimum bagi pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*, dengan demikian dosis kapur 20 g kg^{-1} yang digunakan dalam menaikkan pH pada limbah SBE.

4.3. Pertumbuhan dan Waktu Generasi Terpendek Bakteri Lipolitik *Bacillus cereus*.

Sebelum diaplikasikannya bakteri pada media SBE, perlu diketahui peningkatan populasi bakteri tertinggi pada waktu tertentu, oleh karena itu

pembuatan kurva pertumbuhan bertujuan untuk menggambarkan karakteristik kolonisasi bakteri serta untuk memprediksi populasi mikroorganisme dalam jangka waktu yang sama serta keaktifannya dalam proses metabolisme (Fardiaz, 1992). Waktu generasi terpendek adalah waktu yang diperlukan mikroorganisme untuk meningkatkan jumlah sel menjadi dua kali lipat dari jumlah semula pada waktu yang paling singkat. Peningkatan populasi bakteri *Bacillus cereus* dapat dilihat pada grafik kepadatan sel bakteri Gambar 4.1.



Gambar 4.1. Pertumbuhan *Bacillus cereus* pada *Medium Mineral* mengandung CPO, dengan waktu generasi terpendek 2,23 jam/generasi.

Berdasarkan Grafik 4.1 Pola pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* selama 24 jam inkubasi menunjukkan pola pertumbuhan yang seragam. Pada jam ke-0 tidak adanya waktu generasi, hal ini dikarenakan sel bakteri belum membelah. Pada jam ke-3 menunjukkan waktu generasi paling tinggi, hal ini dikarenakan bakteri masih dalam fase penyesuaian. Pada jam ke-6 didapat waktu generasi tercepat yaitu 2,23 jam/generasi, hal ini menunjukkan bakteri telah memasuki fase eksponensial dikarenakan bakteri telah membelah sel dengan begitu banyak. Menurut Hogg (2005), pada saat fase eksponensial, sel mikroorganisme dalam keadaan yang stabil, sel-sel baru terbentuk dengan laju konstan dan sel

mikroorganisme membelah secara optimum pada saat *doubling time* (waktu lipat dua) sehingga biasanya tercapai di tengah-tengah fase eksponensial.

Pada jam ke-9, 12 dan 15 pertumbuhan bakteri relatif konstan, hal ini menunjukkan bakteri telah memasuki fase stationer, kemudian pada jam ke-18 waktu generasi menjadi 0, hal ini menunjukkan bakteri telah mengalami fase kematian. Pada jam ke 21 bakteri kembali meningkat dikarenakan adanya sel-sel baru bakteri telah membelah diri, lalu pada jam ke-24 waktu generasi menjadi lebih singkat hal ini diduga populasi bakteri memasuki fase eksponensial kembali. Populasi bakteri lipolitik *Bacillus cereus* yang dihitung setiap tiga jam, dan waktu generasi terpendek berdasarkan perhitungannya yang disajikan pada sub bab 3.4.6, dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3. Waktu Generasi Terpendek *Bacillus cereus*

Jam Ke-	Jumlah Sel Bakteri (sel/mL)	Log Bakteri	Waktu G (Jam/generasi)
0	59,2x10 ⁶	7,77	0
3	61,6x10 ⁶	7,78	52,67
6	157,6x10⁶	8,19	2,23
9	337,6x10 ⁶	8,52	2,74
12	488x10 ⁶	8,68	5,68
15	856x10 ⁶	8,93	3,72
18	400x10 ⁶	8,60	0
21	448x10 ⁶	8,65	18,47
24	584x10 ⁶	8,76	7,89

Keterangan : Baris yang ditebalkan merupakan waktu generasi terpendek

Tabel 4.3 menunjukkan bahwa peningkatan jumlah sel bakteri tertinggi pada waktu jam ke-6 dengan nilai waktu generasi 2,23 jam/generasi. Nilai tersebut merupakan waktu generasi terpendek yang digunakan sebagai dasar pembuatan dan pemberian inokulum pada pengujian kemampuan bakteri pada limbah SBE. Pada jam ke-0 dan 18 tidak mempunyai nilai waktu generasi, hal ini disebabkan sel bakteri belum membelah diri karena pada tahapan ini bakteri masih dalam fase penyesuaian. Sholikhah (2015), dalam penelitiannya menyatakan bahwa *Bacillus cereus* mengalami fase adaptasi pada 5 jam pertama, kemudian pada jam ke-5 sampai jam ke-18 merupakan fase eksponensial dari *Bacillus cereus* lalu setelah jam ke-18 pola pertumbuhan bakteri menurun. Pada jam ke-3, 9, 12, 15, 21 dan 24

waktu generasi yang didapat masih terlalu tinggi sehingga pada jam-jam tersebut tidak digunakan sebagai dasar waktu pengaplikasian inokulum bakteri.

4.4. Populasi Bakteri Lipolitik *Bacillus cereus* pada Limbah SBE

Peningkatan populasi bakteri *Bacillus cereus* pada limbah SBE menunjukkan pertumbuhan bakteri itu sendiri dalam proses bioremediasi. Jumlah populasi awal sel bakteri saat aplikasi adalah $5,12 \times 10^8$ sel mL⁻¹. Selanjutnya didapat populasi bakteri yang berbeda-beda pada setiap dosis bakteri lipolitik yang diaplikasikan pada limbah SBE setiap waktu pengamatan.

Pengaruh perlakuan dosis bakteri terhadap populasi bakteri dalam bioremediasi limbah SBE pada minggu ke-1, 2, 3 dan 4 dianalisis dengan sidik ragam hasilnya disajikan pada Lampiran 6, 7, 8 dan 9. Hasil uji F menunjukkan pengaruh dosis bakteri yang nyata terhadap populasi pada setiap periode pengamatan. Perbedaan kepadatan populasi bakteri antar taraf perlakuan disajikan pada Tabel 4.4.

Tabel.4.4 Populasi bakteri lipolitik *Bacillus cereus* pada setiap perlakuan pada minggu ke-1, 2, 3 dan 4 setelah aplikasi

Konsentrasi inokulum (mL kg ⁻¹)	Populasi bakteri lipolitik <i>bacillus cereus</i> (log 10) minggu ke			
	1	2	3	4
0	1,00 a	1,00 a	1,00 a	1,00 a
25	3,90 b	4,90 b	7,40 b	7,74 b
50	4,13b	5,00 b	7,63 bc	7,43 b
75	5,96 b	5,47 b	7,93 bc	7,53 b
100	6,39 b	7,89 c	7,89 bc	7,87 b
125	6,34 b	7,92 c	8,03 c	7,52 b

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada setiap minggu pengamatan menunjukkan perbedaan yang tidak nyata pada taraf uji Duncan 5%

Berdasarkan Tabel 4.4 populasi bakteri menunjukkan hasil yang berbeda akibat perlakuan konsentrasi bakteri *Bacillus cereus* yang berbeda. Berdasarkan hasil uji F (Lampiran 4, 5, 6 dan 7), perlakuan konsentrasi inokulum bakteri pada minggu ke 1, 2, 3 dan 4 berpengaruh nyata terhadap populasi bakteri.

Populasi bakteri lipolitik pada perlakuan 0 mL inokulum bakteri lipolitik berbeda nyata dengan perlakuan lainnya, baik pada pengamatan minggu ke 1, 2, 3 maupun 4. Hal ini dikarenakan pada perlakuan kontrol tidak diaplikasikan bakteri

Bacillus cereus sehingga populasi bakteri 0. Sedangkan pada populasi bakteri lipolitik *Bacillus cereus* pada perlakuan konsentrasi 25 mL, 50 mL, 75 mL, 100 mL dan 125 mL menunjukkan populasi berbeda tidak nyata pada minggu ke-1. Hal ini dikarenakan pada minggu ke-1 bakteri masih dalam fase penyesuaian atau fase lag sehingga populasi antar perlakuan relatif sama. Pada fase adaptasi atau penyesuaian sel mikroba menjadi lebih besar tetapi jumlahnya tetap sama atau sedikit terjadi perkembangan populasi meskipun metabolisme sel terus berlangsung (Fauziah *et al.*, 2011).

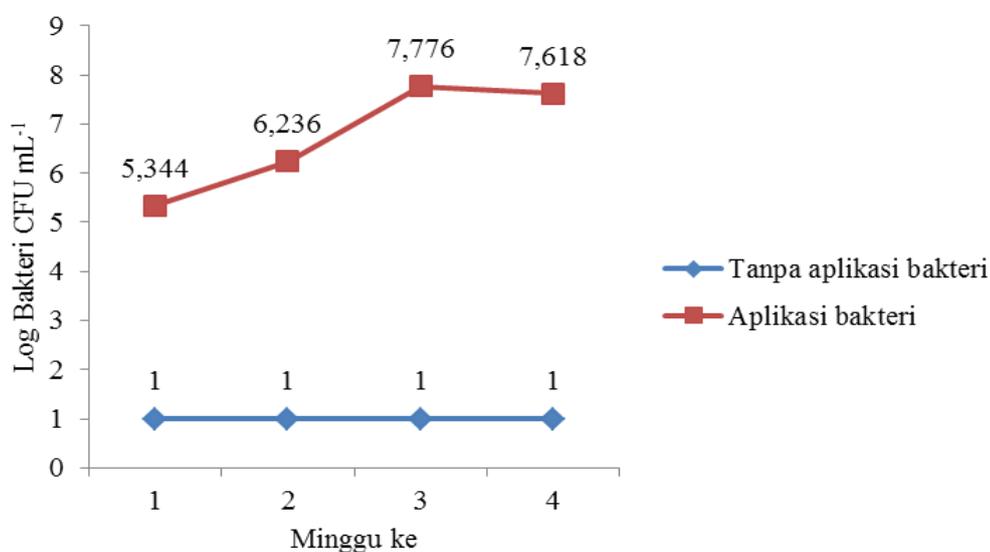
Populasi bakteri *Bacillus cereus* pada perlakuan konsentrasi 25 mL, 50 mL dan 75 mL bakteri lipolitik masing-masing menunjukkan kepadatan yang berbeda tidak nyata pada minggu ke-2, sedangkan pada perlakuan konsentrasi 100 mL dan 125 mL menunjukkan kepadatan yang tertinggi dari perlakuan lainnya. Pada minggu ke-3 populasi bakteri *Bacillus cereus* pada perlakuan konsentrasi 25 mL, 50 mL, 75 mL dan 100 mL, menunjukkan kepadatan berbeda tidak nyata, sedangkan pada perlakuan konsentrasi 125 mL menunjukkan kepadatan yang tertinggi dari perlakuan lainnya. Hal ini dikarenakan konsentrasi yang tertinggi akan mempercepat pembelahan sel, sehingga jika bakteri cepat membelah sel maka cepat pula dalam merombak limbah. Menurut Zulaika *et al.* (2012), dalam penelitiannya menyatakan bahwa resistensi dan kekuatan reduksi *Bacillus* terhadap merkuri di lingkungannya tergantung pada jumlah sel yang digunakan, semakin tinggi jumlah sel yang digunakan maka resistensi dan daya reduksi *Bacillus* akan semakin tinggi. Oleh karena itu semakin tinggi konsentrasi inokulum bakteri yang diaplikasikan pada limbah SBE maka populasi bakteripun semakin tinggi.

Pada minggu ke-4 populasi bakteri *Bacillus cereus* pada konsentrasi konsentrasi 25 mL, 50 mL, 75 mL dan 100 mL, menunjukkan kepadatan yang berbeda tidak nyata, hal ini dikarenakan pada minggu ke-4 bakteri memasuki fase kematian. Dengan kata lain jumlah bakteri yang berkembang biak lebih sedikit dibandingkan dengan jumlah bakteri yang mengalami kematian. Menurut Anggriani *et al.* (2012), beberapa faktor yang menyebabkan populasi mikroba mengalami kematian yaitu makanan di dalam medium sudah habis dan energi cadangan di dalam sel sudah habis.

Dengan demikian pemberian inokulum bakteri lipolitik *Bacillus cereus* dengan konsentrasi yang berbeda pada limbah SBE tidak menunjukkan populasi bakteri lipolitik *Bacillus cereus* yang berbeda, hal ini dikarenakan terjadinya persaingan dalam mendapatkan makanan baik itu sesama bakteri *Bacillus cereus* maupun dengan mikroorganisme indigen pada limbah SBE. Anggriani *et al.* (2012), menyatakan bahwa terlalu tingginya populasi bakteri dapat meimbulkan persaingan sesama jenis bakteri (*Bacillus sp.*) maupun mikroorganisme indigen dalam pengambilan nutrisi atau substrat yang pada akhirnya aktivitas bakteri menjadi terhambat. Sehingga inokulum bakteri dengan konsentrasi 25 mL sudah dapat digunakan sebagai agen bioremediasi limbah SBE

4.5. Grafik Populasi Bakteri Lipolitik *Bacillus cereus* Setiap Minggu pada Limbah SBE

Populasi bakteri lipolitik *Bacillus cereus* yang diamati tiap minggu selama 4 minggu pada limbah SBE disajikan pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2. Populasi *Bacillus cereus* (log konsentrasi bakteri) pada limbah SBE setiap minggu selama 4 minggu.

Berdasarkan grafik pada Gambar 4.2 populasi bakteri lipolitik *Bacillus cereus* pada perlakuan kontrol atau tanpa aplikasi bakteri menunjukkan populasi yang sama pada tiap minggunya. Sedangkan pada populasi bakteri lipolitik *Bacillus cereus* yang diaplikasikan bakteri menunjukkan kepadatan populasi yang

berbeda pada tiap minggunya. Pada minggu pertama populasi bakteri lipolitik *Bacillus cereus* mengalami peningkatan walaupun tidak signifikan, karena pada minggu pertama bakteri mengalami fase adaptasi dan sudah mengalami pembelahan sel untuk memasuki fase eksponensialnya. Pada minggu ke-2 dan 3 bakteri meningkat cukup tinggi, pada tahap ini bakteri telah memasuki fase eksponensial yang optimal. Selanjutnya pada minggu ke-4 bakteri mengalami penurunan populasi, pada tahap ini dikarenakan zat makanan yang diperlukan bakteri sudah berkurang sehingga pertumbuhan bakteri tidak sebanding dengan jumlah bakteri yang mati. Susanti (2003), menyatakan pada fase adaptasi terhadap lingkungan, bakteri akan menghidrolisis komponen medium yang diperlukan untuk metabolisme dan pertumbuhan sel. Pada fase kematian zat makanan yang diperlukan bakteri berkurang dan hasil ekskresi bakteri telah bertimbun dalam medium, sehingga mengganggu pembiakan dan pertumbuhan bakteri selanjutnya.