

**TELAAH PENGGUNAAN SENYAWA AKTIF HASIL PIROLISIS  
TEMPURUNG KELAPA UNTUK PEMBASMI BAKTERI PERUSAK KAYU  
(*Bacillus cereus* var *mycoides*).**

**I.A.Rivai Bakti, Budi Untari, Dwi Anugrah  
Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sriwijaya**

**ABSTRACT**

*It has been done a research on the inhibition of liquid smoke from pyrolysis of coconut shell against the growth of bacteria *Bacillus cereus* var *mycoides* based on the variation of its concentration. The bacteria of *Bacillus cereus* var *mycoides* could be obtained by isolating cultivated from a wood called "merawan" (*Hopea* sp) using pour plate methode and was examined its growth in vitro by using a disc-paper diffusion methode. The results indicated that the higher the concentration of the liquid smoke, biginning from 25%, 50%, 75% and 100%, the larger the inhibition zone, that were 1,825, 2,425, 2,725 dan 3,10 cm. The analysed by means of GC and GC-MS of the compounds being in the liquid smoke, it was showed that the antibacterial compounds in the liquid smoke were phenol, 2-methoxy phenol, 2-methoxy-4-metyyl phenol, 4-ethyl-2-methoxy phenol, dan 2,6-dimethoxy phenol.*

*Keywords : liquid smoke, coconut shell, *Bacillus cereus* var *mycoides*, (*Hopea* sp).*

**ABSTRAK**

*Telah dilakukan uji daya hambat asap cair pirolisis tempurung kelapa terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* var *mycoides*. Bakteri. *Bacillus cereus* var *mycoides* merupakan hasil isolasi bakteri kayu merawan (*Hopea* sp) yang ditanam dengan metoda cawan tuang dan diuji pertumbuhannya dengan cara in vitro dengan menggunakan metoda difusi kertas cakram. Hasil menunjukkan bahwa konsentrasi asap cair, yaitu 25%, 50%, 75% dan 100% v/v maka luas zona hambatnya, yaitu sebesar 1,825, 2,425, 2,725 dan 3,10 cm. Senyawa antibakteri pada asap cair adalah senyawa fenol, 2-metoksi fenol, 2-metoksi-4-metil fenol, 4-etil-2-metoksi fenol, dan 2,6-dimetoksi fenol.*

---

*Kata kunci : asap cair, tempurung kelapa, *Bacillus cereus* var *mycoides*, kayu merawan. (*Hopea* sp)*

## PENDAHULUAN.

**K**elapa (*Cocos nucifera*) yang merupakan tumbuhan daerah tropis banyak ditanam hampir di seluruh tempat di Indonesia, dimana tidak kurang dari 3.722.500 ha lahan ditanami kelapa dengan jumlah 96,23%-nya berupa perkebunan rakyat (3.584.900 ha) dan sisanya dikuasai swasta (137.500 ha). (Maudy, 1992)

Pada pengolahan minyak kelapa dihasilkan limbah antara lain tempurung kelapa (endocarp), suatu lapisan yang keras tebal 3 – 6 mm, yang merupakan limbah padat, dengan berat antara 15–19% dari berat buah. (L.Suhardiyono, 1993). Tempurung kelapa terletak di sebelah dalam sabut dengan ketebalan antara 3 – 5 mm, beratnya 15 – 19 % berat buah kelapa. Komposisi kimia tempurung kelapa :

Tabel 1. Komponen kimia tempurung kelapa.

Komponen	%
Selulosa	26,6
Pentosa	27,7
Lignin	29,4
Abu	0,6
Solven ekstraktif	4,2
Uronat unhidrat	0,5
Nitrogen	0,11
Air	8,0

Sumber : L.Suhardiyono (1955)

Salah satu senyawa kimia terbesar yang terkandung dalam tempurung kelapa adalah lignin. Bila tempurung kelapa ini dibakar pada suhu diatas 100° C yaitu pada suhu 280–500° C maka lignin akan terurai menjadi fenol. yang menurut Pszczola (1995), senyawa dalam asap cair yang mempunyai efek bakterisid atau bakteriostatik adalah fenol dan turunannya. Tjutju Nurhayati (2000) melaporkan bahwa semua jenis destilat kayu mampu menghambat pertumbuhan bakteri.

Penggunaan pengawet kayu sangat diperlukan terutama untuk pengawetan kayu dalam masa penyimpanan yang akan diekspor dan kayu untuk kebutuhan dalam negeri agar tidak terjadi kerusakan oleh mikroba perusak kayu seperti dari genus *Bacillus*, *psuedomonas* dan *Aerobacter*. Perlu dilakukan pencarian bahan baku alam yang berpotensi sebagai pengawet kayu, sehingga ketergantungan terhadap pengawet bahan kimia dapat dikurangi. Oleh karena itu pemanfaatan bahan limbah seperti tempurung kelapa yang ketersediaannya cukup besar diambil sebagai bahan alternatif, sekaligus

untuk meningkatkan nilai tambah atas tempurung kelapa.

Penelitian ini dimaksud untuk mengukur daya aktivitas antibakteri asap cair dari hasil pirolisis tempurung kelapa terhadap bakteri perusak kayu *Bacillus cereus* var *mycoides* yang diisolasi dari kayu merawan (*Hopea sp.*), dan menentukan serta mengidentifikasi senyawa aktif yang terkandung di dalamnya.

Bakteri *Bacillus cereus* var tergolong gram positif dan endospora ada di tengah atau di ujung sporangium dan bersifat saprofit (Dwidjoseputro, 1998), sehingga dapat dikatakan bahwa bakteri ini dapat memanfaatkan kayu sebagai nutrisi hidupnya. Banyak spesies bakteri dapat berkembang biak dalam kayu dan macam kayunya diperkirakan besar pengaruhnya dalam menentukan bakteri yang merusak kayu. Bakteri pada produk-produk kayu terdapat  $\pm$  198 isolat spesies diantaranya *Basillus*, *Aerobacter* dan *Pseudomonas*.

## METODA PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di laboratorium penelitian Jurusan Kimia dan Laboratorium Kesehatan Daerah Palembang selama lima bulan tahun 2001. Tempurung kelapa diambil

dari pasar tradisional di Plaju, Kecamatan Seberang Ulu II, Palembang. Tempurung kelapa dibersihkan dan dikeringkan pada suhu 100° C selama 10 jam sebelum digunakan.

### 2.1. Analisa Mikrobiologi.

Untuk melihat aktivitas antibakteri secara *in vitro* dapat dilakukan dengan menggunakan salah satu dari dua metoda berikut :

#### 1. Uji dilusi.

Suatu rangkaian pengenceran zat antibakteri disiapkan lalu ditanami bakteri yang diperiksa kemudian diinkubasi. Cara ini dapat dilakukan dengan menggunakan media cair atau media padat. Kekeruhan pada tabung setelah waktu inkubasi menunjukkan bahwa konsentrasi antibakteri dalam tabung tidak mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Sebaliknya, apabila tidak ada kekeruhan pada tabung menunjukkan bahwa mikroorganisme peka terhadap konsentrasi antibakteri dalam tabung.

#### 2. Uji Difusi.

Suatu cakram kertas steril direndam dengan zat antibakteri pada konsentrasi yang diinginkan, lalu dikeringkan. Penanaman biakan bakteri dilakukan dengan

menyebarkannya pada permukaan media padat. Sesudah dikeringkan pada suhu 37° C selama beberapa menit, di atas permukaan media ditempelkan cakram kertas antibakteri dengan menggunakan penjepit steril kemudian diinkubasi. Setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37° C, akan terbentuk zona hambat di sekeliling cakram. Diameter zona hambat yang diukur menunjukkan daya hambat zat antibakteri terhadap bakteri itu. Metoda difusi merupakan metoda yang paling banyak dipakai di laboratorium dan dapat dilihat kepekaan dari mikroorganisme terhadap suatu zat antimikroba.

### 2.2..Sterilisasi alat dan bahan.

Semua alat dan bahan yang digunakan disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit, sedangkan meja tempat kerja diatas permukaannya disterilkan dengan dibilas alkohol 70%.

### 2.3.Pembuatan asap cair.

Tempurung kelapa yang telah dibersihkan dan dikeringkan ditimbang sebanyak 80 gram. Dimasukkan ke dalam labu destilasi yang telah dihubungkan dengan kondensor yang dialiri air pendingin, selanjutnya dipanaskan pada suhu  $\pm 350^{\circ}$  C

selama 2 jam, lalu asap cairnya ditampung dalam erlenmayer.

### 2.3.Isolasi bakteri *Bacillus cereus var mycoides*. (Colome et al, 1986)

Kayu merawan yang telah dihaluskan diambil 5 gram dilarutkan dalam 45 ml aquadest steril (larutan induk). Tahap awal isolasi dilakukan dengan metoda pengenceran dari  $10^{-1}$  sampai dengan  $10^{-6}$  dengan aquadest steril, kemudian disiapkan cawan petri dengan media NA (Nutrien Agar) masing-masing 15 ml. Masing-masing pengenceran diambil 1 ml suspensi dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi medium NA dan dihomogenkan dengan cara memutar cawan petri, kemudian diinkubasi pada suhu 37° C selama 24-48 jam. Koloni yang tumbuh dan mempunyai ciri yang berbeda dipisahkan pada medium NA dalam cawan petri dengan metoda gores dan diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37° C. Teknik ini dilakukan berulang kali sehingga diperoleh koloni yang tumbuh terpisah sebagai indikasi awal koloni yang murni. Kemudian koloni tersebut diidentifikasi untuk mengetahui jenis spesiesnya.

2.4. Identifikasi bakteri dengan uji biokimia (Cappuccino dan Sherman, 1987, Sonnenwirth dan Garret, 1985; Oxoid, 1982, Hadioetomo, 1989).

Selanjutnya dilakukan : 1. Pewarnaan gram., 2. Pewarnaan spora. 3. Uji katalase. 4. Uji glukosa. 5. Uji Indol. 6. Uji Methyl red. 7. Uji Voges-Proskauer. 8. Uji Sitrat. 9. Uji Hidrolisis Urea

1. Uji aktivitas Antimikroba Asap cair Hasil Pirolisis Tempurung Kelapa Terhadap bakteri *Bacillus cereus* var *mycoides*.

Uji dilakukan dengan cara in vitro menggunakan difusi kertas cakram dan penanaman bakteri dengan cawan tuang: satu koloni bakteri uji sebelumnya dibiakkan dahulu dalam medium BHI (Brain Heart Infusion) dan diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Inokulat ini diencerkan dari 10<sup>-1</sup> sampai 10<sup>-3</sup> dengan aquadest steril. Dari tabung 10<sup>-3</sup> suspensi bakteri ini dibandingkan kekeruhannya sehingga setara dengan Nephelometer Mc. Farland 0,5 (10<sup>-6</sup> sel/mL). Dipipet 1 mL biakan cair bakteri dari tabung 10<sup>-3</sup> ke dalam cawan petri steril. Ditambahkan 15 mL medium Nutrien Agar cair, dihomogenkan dan dibiarkan membeku. Kemudian baru diletakan kertas cakram (dibuat dari tiga lapis kertas saring steril,

diameternya 6 mm) yang telah dicelupkan ke dalam asap cair dari berbagai konsentrasi (25%, 50%, 75% dan 100%) (v/v). Diletakkan masing-masing kertas cakram tersebut ke bagian tengah cawan petri dan dibuat untuk 20 cawan petri dari perlakuan dan 4 perulangan. Setelah itu biakan diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan mengukur zona hambatan dari bakteri *Bacillus cereus* var *mycoides*.

### 3. Rancangan Percobaan.

Rancangan percobaan yang dilakukan adalah rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 4 perulangan. Perlakuan yang diberikan berdasarkan perbedaan konsentrasi asap cair tempurung kelapa yaitu : A.Kontrol. B. Konsentrasi asap cair 25% v/v. C. Konsentrasi asap cair 50% v/v. D.Konsentrasi asap cair 75% v/v. E. Konsentrasi asap cair 100% v/v

4. Analisa senyawa fenol dan turunannya dalam asap cair hasil pirolisis tempurung kelapa dengan menggunakan GC dan GC-MS.

a. Identifikasi senyawa fenol dan turunannya dalam asap cair tempurung kelapa dengan menggunakan GCMS.

Asap cair tempurung kelapa dilarutkan dalam etanol, kemudian diinjeksikan ke dalam kolom kromatografi untuk mengidentifikasi komponen yang terdapat dalam asap cair tersebut. Beberapa komponen yang dominan dianalisa lebih lanjut dengan MS sehingga dapat ditentukan senyawa dalam asap cair.

b. Menentukan konsentrasi senyawa fenol dan turunannya dalam asap cair tempurung

kelapa dengan menggunakan GC. Standar yang digunakan adalah fenol, dengan konsentrasi masing-masing 1%, 0,5%, dan 0,25% v/v. Konsentrasi senyawa fenol dihitung berdasarkan regresi linier antara konsentrasi fenol standar dengan luas area fenol standar. Konsentrasi turunan fenol dihitung dengan membandingkan luas area

fenol dengan luas area fenol sampel yang konsentrasinya telah diketahui.

## HASIL DAN PEMBAHASAN.

### 3.1. Dari hasil uji biokimia terhadap *Bacillus cereus* var *mycoides*.

Dengan pewarnaan gram berwarna ungu positif, pewarnaan spora positif dimana waktu perlakuan pemanasan pada pewarnaan spora warna menembus endospora artinya termasuk famili Bacillaceae. Test katalase ada gelembung udara karena menguraikan hidrogen peroksida oleh enzim katalase jadi termasuk genus bacillus. Test glukosa medium berubah warna dari biru menjadi kuning dan tidak ada gas, dan uji Voges Proskauer medium berwarna merah. Kesimpulan bahwa bakteri yang diisolasi dari kayu merawan adalah bakteri *Bacillus cereus* var *mycoides*.

Tabel 2. Karakteristik isolat bakteri *Bacillus cereus* var *mycoides*.

Uji Biokimia	<i>Bacillus cereus</i> var <i>mycoides</i> .	Keterangan
Gram	+	Bakteri berwarna ungu
Endospora	+	Spora terdapat dalam badan sel
Katalase	+	Ada gelembung udara
Glukosa	+	Medium berwarna kuning, tidak ada gas
Indol	-	Medium tetap berwarna kuning
Methyl red	-	Medium tetap berwarna kuning
Voges Proskauer	+	Medium berwarna merah
Sitrat	-	Medium tetap berwarna hijau
Urea	-	Medium tetap berwarna kuning

### 3.2. Analisa asap cair hasil pirolisis tempurung kelapa dengan spektrometri massa

Berdasarkan sifat kepolarannya yang berbeda diperoleh puncak yang berbeda, maka dengan menggunakan GC dapat dicari persamaan garis linier antara antara luas area dengan konsentrasi larutan standar fenol 1%, 0,5%, dan 0,25%. Diperoleh persamaan

liniernya  $Y = 581,701X + 178,954$ . Dimana  $Y =$  luas area,  $X =$  konsentrasi fenol standar  $a =$  slope,  $b =$  intersep. Untuk konsentrasi fenol sampel, luas daerah sampel = 426,124  $\rightarrow Y = ax + b$ ,  $426,124 = 581,701x + 178,124 \rightarrow x = 0,425\%$ , demikian juga senyawa lainnya dapat dihitung seperti tersebut diatas. Hasilnya sebagai tersebut dalam Tabel 4.

Tabel 3. Konsentrasi fenol dan turunannya dalam sampel. untuk 100% isolat  
 $Y = 581,701X + 178,954$

Nama	Rumus molekul	Berat molekul	Luas daerah	Konsentrasi %
Fenol	$C_6H_5OH$		426,124	0,425
2-metoksi-fenol	$C_7H_8O_2$	124	50,262	0,05
2-metoksi-4-metil-fenol	$C_8H_{10}O_2$	138	48,824	0,045
4-metil-2-metoksi-fenol	$C_9H_{12}O_2$	152	48,824	0,049
2,6-dimetoksi-fenol	$C_8H_{12}O_3$	154	51,199	0,051

### 3. Uji aktivitas bakteri

Hasil pirolisis 80 gram tempurung kelapa diperoleh 35,5 mL asap cair, dengan rendemen 44,375% v/b. Kemudian dilakukan uji aktivitas antibakterinya.

Asap cair tempurung kelapa mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* var *mycoides*, ditunjukkan akan adanya zona terang yang terbentuk di sekeliling koloni yang telah diberikan perlakuan asap cair. Masing-

masing perlakuan memberikan respon yang berbeda terhadap zona hambat bakteri *Bacillus cereus* var *mycoides*. karena perlakuan konsentrasi yang tidak sama. Daya hambat tertinggi didapat pada konsentrasi 100% dengan diameter 3,10 cm, dan konsentrasi terkecil (25%) diamter 1,825 cm.

Konsentrasi antimikroba yang rendah umumnya akan bersifat bakteriostatik sedangkan konsentrasi tinggi akan bersifat bakterisida.

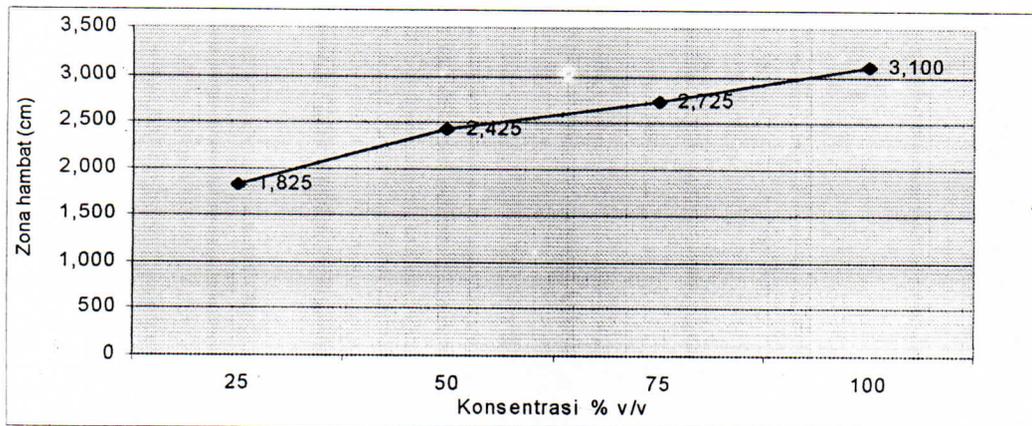
Tabel 4. Zona hambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* var *mycoides*, komposisi fenol dan turunannya dalam sampel untuk berbagai konsentrasi

Komposisi fenol dan turunannya dan luas daerah zona hambat pertumbuhan bakteri					
Nama	Konsentrasi dan zona hambat				Luas daerah Kons. 100%(cm <sup>2</sup> )
	25%	50%	75%	100%	
Zona hambat	1,825 cm <sup>2</sup>	2,425 cm <sup>2</sup>	2,725 cm <sup>2</sup>	3,10 cm <sup>2</sup>	-
Fenol	0,1053	0,2125	0,3188	0,425	426,124
2-metoksi-fenol	0,0125	0,0250	0,0375	0,05	50,262
2-metoksi-4-metil-fenol	0,0113	0,0225	0,0338	0,045	48,824
4-metil-2-metoksi-fenol	0,0123	0,0245	0,0368	0,049	48,824
2,6-dimetoksi-fenol	0,0128	0,0255	0,0375	0,051	51,199

Dengan masuknya fenol ke dalam dinding sel bakteri, menyebabkan protein dinding sel mengalami denaturasi, akibatnya permeabilitas dari membran dinding sel terganggu.

Bakteri gram positif yang lebih sederhana, dibandingkan dengan susunan dinding sel

bakteri gram negatif yang relatif lebih kompleks. Dinding sel gram positif hanya berlapis tunggal dan mempunyai kandungan lipid yang rendah. Membran sitoplasma bakteri tersusun dari protein dan lemak, karena itu membran ini rentan terhadap fenol dan turunannya.



Gambar 1. Kurva hubungan pengaruh konsentrasi asap cair tempurung kelapa terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* var *mycoides*

Masuknya fenol ke dalam dinding sel akan menyebabkan dinding sel bakteri gram positif mengalami dehidrasi, pori dinding sel mengecil sehingga daya serap dinding sel dan membran menurun. Keadaan ini dapat menyebabkan terganggunya metabolisme sel sehingga pertumbuhan bakteri menjadi terhambat. Berbeda dengan gram negatif, struktur dinding sel yang kompleks akan melindungi sel bakteri dari berbagai senyawa kimia yang bersifat antimikroba. Keadaan ini menyebabkan pertumbuhan bakteri gram negatif sulit dihambat oleh senyawa antimikroba, kecuali oleh jenis antimikroba tertentu yang hanya efektif untuk bakteri gram negatif. Keaktifan senyawa fenol dapat menurun dalam keadaan tertentu, misalnya bila dilakukan pengenceran terus-menerus. (Peleczar dan Chan, 1988).

## KESIMPULAN DAN SARAN.

### 4.1. Kesimpulan

1. Asap cair tempurung kelapa mempunyai kandungan fenol, 2-metoksi-fenol, 2-metoksi-4-metil fenol, 4-metil-2-metoksi-fenol dan 2,6-dimetoksi-fenol. dengan konsentrasi pada pada sampel konsentrasi

100% adalah 0,425%, 0,05%, 0,045%, 0,049% dan 0,051%.

2. Asap cair tempurung kelapa mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* var *mycoides* pada sampel masing-masing sebesar 1,825, 2,425, 2,725 dan 3,10 cm

### 4.2. Saran.

1. Perlu diadakan penelitian terhadap jenis-jenis kayu yang lain.

## DAFTAR PUSTAKA.

- Bambang Yudono dan Frida Oesman., 1999. "Pemanfaatan Limbah Serbuk Kayu Untuk Bahan pengawetan Ikan Asap". Lembaga Penelitian Universitas Sriwijaya.
- Cappucino, J. G. and Sherman, N 1987. "Microbiology and Laboratory Manual". The Benjamin Cumming's Publish., USA.
- Colome, J.S., Kubinski, AM, Cano, R J and Grady D.V., 1986. "Laboratory Exercise in Microbiology." West Publish., USA.
- Dwidjoseputro, D., 1998. "Dasar-Dasar Microbiologi." Djambatan, Jakarta.
- Eero Sjostrom, 1998. "Kimia Kayu. Dasar - Dasar dan Penggunaan." Penerjemah Dr. Hardjono sastrohamidjojo.

- Girard, J P., 1992. *Technology of Meat and Meat Products.* Ellis Horwood., New York.
- Gupte., 1990. *Mikrobiologi Dasar.* Edisi ke tiga, Bina Putra Aksara, Jakarta.
- Hadioetomo, RS., 1993. "Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek: Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium." , P.T.Gramedia., Jakarta.
- Hanafiah Kemas Ali., 2000. *"Rancangan Percobaan : Teori dan Aplikasi."* Cetakan Ke-Enam., PT Raja Grafindo Persada., Jakarta.
- Hollenbeck, C M., 1977. *"Novel Concepts in Technology and Design of Machinery for Production and Application of Smoke in the Food Industry."* Agricultural University of Marshaw., Pergamon Press., Florida., USA.
- Maudy Ekowati., 1992. *"Kondisi Perkelapaan Indonesia."* Penerbit Yayasan Sosial Tani Membangun., Jakarta.
- Oxoid, 1982. *"The Oxoid Manual."* Fifth Edition., Oxoid Limited., Wade Road, Basin Stoke.
- Pelezar, M J. Jr dan Chan, E.C.S., 1988. *"Dasar - Dasar Mikrobiologi."* Penerjemah Hadioetomo, R S. U I Press., Jakarta.
- Pszczola, D E., 1995. *"Tour Highlights Production and User of Smoke - Based Flavour."* Food Tech., Jan.
- Sudarmo S., 1990. *"Pestisida."* Penerbit kanisius, Yogyakarta.
- Suhardiyono, L., 1995. *"Tanaman Kelapa, Budidaya dan Pemanfaatannya."* Penerbit Kanisius., Yogyakarta.
- Tjutju Nurhayati., 2000. *"Sifat Destilat Hasil Destilasi Kering Empat Jenis Kayu dan Kemungkinan Pemanfaatannya Sebagai Pestisida."* Vol.17, Bulletin Penelitian Hasil Hutan.
- Zyka, J., 1991. *"Instrumentation In Analytical Chemistry I."* Ellis Horwood., England.