

## Pengaruh Senyawa Kimia Dalam Limbah Penyulingan Minyak Atsiri Terhadap Aktivitas *E.coli*

### Effect of Chemical Compounds in Wastes from Essential Oil Distillation on the Activity of *E.coli*

Mai Anugrahwati\*, Wiyogo Prio Wicaksono, Rizqy Nurlestari

Program Studi Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia

Jl. Kaliurang Km 14,5 Sleman Yogyakarta

\*mai.anugrahwati@uii.ac.id

#### Abstrak

Penelitian terkait pengaruh senyawa kimia dalam limbah penyulingan minyak atsiri yang meliputi daun jeruk, daun serih, bunga kenanga dan ketumbar terhadap aktivitas *Escherichia coli* telah dilakukan. Dalam penelitian ini, pengamatan dilakukan menggunakan sel bahan bakar mikroba (*E. coli*) dengan dua kompartemen yang dihubungkan dengan nafion dan menggunakan elektroda seng yang dihubungkan dengan kawat tembaga serta multimeter. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa kimia dalam limbah daun jeruk memiliki pengaruh yang lebih positif terhadap aktivitas *E.coli*, ditunjukkan dengan arus listrik yang dihasilkan mencapai 20  $\mu$ A serta adanya pengaruh yang signifikan dari variasi massa substrat ini terhadap arus listrik yang dihasilkan.

Senyawa kimia dari ketiga sampel limbah lainnya tidak seefektif daun jeruk jika digunakan sebagai substrat karena berdasarkan analisis ekstrak metanolnya dengan GC-MS menunjukkan bahwa masih adanya senyawa kimia seperti asam oktadekanat dan rosifoliol yang bersifat antibakteri dalam limbah tersebut. Kesimpulan yang diperoleh dari percobaan ini adalah tidak semua limbah dari penyulingan minyak atsiri berpotensi untuk menjadi substrat dalam sel bahan bakar mikroba sebab beberapa senyawa kimia yang bersifat antibakteri berpengaruh negative terhadap aktivitas bakteri *E.coli* dalam sel tersebut.

**Kata kunci :** sel bahan bakar mikroba, *Escherichia coli*, limbah penyulingan minyak atsiri

#### Abstract

Effect of chemical compounds in the wastes of essential oil distillation including lime leaves, lemongrass leaves, ylang-ylang flower, and coriander seed on the activity of *Escherichia coli* has been performed. In this research, observation was done by using microbial fuel cell (using *E.coli*) with two compartments were connected by nafion membrane and zinc plats were used as electrodes which were connected by copper wire and multimeter. Energy production from the cell was shown from the generated current due to the *E.coli*'s oxidation activity to the substrates (distillation wastes). Results from the research exhibited that chemical compounds in the lime leaves positively affected to the bacterial activity with the generated current present up to 20  $\mu$ A. It is also observed that mass variation of the substrates significantly affected the current generation. Chemical compounds in the three other wastes were found to be not as effective as lime leaves because from the analysis of their methanol extracts by GC-MS indicated that these contained antibacterial compounds such as octadecanoic acid and rosifoliol. Conclusion from the research was not all of wastes from essential oil distillation have a potency to be used as substrates in the microbial fuel cell as some of these chemicals had an antibacterial property which negatively affected the *E.coli* bacterial activity in the cell.

**Keywords :** microbial fuel cell, *Escherichia coli*, waste of essential oil distillation.

## PENDAHULUAN

*E.coli* merupakan bakteri dengan bentuk batang, gram-negatif, gammaproteobakterium dalam keluarga Enterbaktericeae dan merupakan anggota pada kelompok bakteri fecal coliform. Habitat utamanya adalah dalam usus mamalia berdarah panas, termasuk manusia. Bakteri ini dilepaskan ke lingkungan melalui deposisi feses ke habitat keduanya yakni lingkungan. Penelitian menunjukkan bahwa *E. Coli* dapat bertahan dalam waktu yang lama di lingkungan dan bereplikasi di air, alga, dan di tanah baik pada daerah tropis maupun subtropis pada temperatur lingkungan. Konsentrasi nutrisi dan temperatur yang hangat merupakan faktor utama yang menyebabkan *E.coli* dapat hidup di luar inangnya (Ishii, S. and Sadowsky, M.J., 2008). Karena dapat hidup di lingkungan, *E.coli* juga menjadi indikator kualitas air dimana monitor keberadaan *E.coli* di lingkungan dapat menjadi indikasi adanya kontaminasi feses (Odonkor, S.T. and Ampofo, J.K., 2013). Kualitas air ini sangat berpengaruh besar terhadap kesehatan manusia, misalnya

pada lingkungan perairan yang digunakan untuk budidaya perikanan, kualitas air yang mengandung banyak *E.coli* dapat menyebabkan tingginya konsentrasi bakteri ini pada jaringan otot maupun pada sistem pencernaan ikan yang meningkatkan resiko pemaparan patogen pada konsumen ikan tersebut, yakni manusia (Dang, S.T.T. and Dalsgaard, A., 2012).

Karena keberadaannya yang melimpah dan kemudahan hidupnya di lingkungan akhir-akhir ini, aktivitas *E.coli* banyak dimanfaatkan dalam sel bahan bakar mikroba (Fitrinaldi, 2011). Sel bahan bakar mikroba merupakan sistem bioelektrokimia yang menggunakan proses metabolisme mikroorganisme untuk mengubah senyawa-senyawa organik menjadi listrik, dimana operasi sistem ini dapat berlangsung pada temperatur dan tekanan ambien (Chouler *et al.*, 2016).

Secara sederhana, sel bahan bakar mikroba tersusun atas dua kompartemen, yakni kompartemen anoda dan kompartemen katoda. Di anoda, mikroba melangsungkan aktivitas oksidasi senyawa organik dan menghasilkan elektron. Senyawa-

senyawa organik sederhana hingga senyawa yang lebih kompleks dapat diproses pada kompartemen ini. Sedangkan di katoda, proton dan elektron yang dihasilkan dari anoda bertemu dan membentuk air. Proses reduksi dan oksidasi pada sel bahan bakar mikroba ini juga melibatkan proses oksidasi senyawa organik oleh mikroba. Pada penelitian sebelumnya, berbagai substrat organik yang berasal dari air limbah seperti limbah rumah tangga, limbah pemurnian minyak bumi (Guo *et al.*, 2016), hingga limbah padatan dari sisa-sisa makanan (Hou *et al.*, 2016) dapat digunakan di kompartemen anoda. Dimana energi kimia yang terkandung pada limbah-limbah ini adalah sekitar 26% berasal dari material organik serta unsur-unsur nutrisi seperti nitrogen dan fosfor (Gude, 2016).

Salah satu limbah yang masih jarang digunakan sebagai substrat dalam sel bahan bakar mikroba adalah limbah dari proses penyulingan minyak atsiri. Metode penyulingan minyak atsiri terdiri atas penyulingan dengan air, penyulingan dengan uap dan air, serta penyulingan dengan uap (Sumitra

dan Wijandi, 2003). Dari berbagai metode tersebut, yang paling umum digunakan adalah penyulingan yang menggunakan air ataupun uap air. Dimana hasil sampingnya berupa padatan dari bagian tumbuhan terekstrak yang akan menjadi limbah dan jika tidak dikelola dengan baik akan berdampak negatif bagi lingkungan. Limbah padat ini membusuk selama musim hujan di lahan penampungan, sehingga dapat menyebabkan bertambahnya beban kontaminan organik di perairan yang ber dampak pada masalah kesehatan lingkungan (Singh *et al.*, 2013). Selain itu, limbah ini juga dimungkinkan mengandung senyawa-senyawa kimia yang berpotensi bersifat bioaktif.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengamati pengaruh senyawa kimia yang terdapat pada limbah padat hasil penyulingan minyak atsiri dari beberapa bahan alam; daun jeruk, ketumbar, daun sereh dan bunga kenanga sebagai substrat pada bahan bakar mikroba terhadap aktivitas *E. coli*.

## **METODOLOGI PENELITIAN**

### **Bahan dan Alat**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *E. coli* dari Laboratorium Farmasi FMIPA UII, limbah limbah penyulingan minyak atsiri dari Center of Essential Oil Studies (CEOS) Universitas Islam Indonesia (limbah yang diuji pada penelitian ini berupa limbah padat produksi minyak atsiri daun jeruk, serih, ketumbar dan bunga kenanga), buffer fosfat, NaCl, ekstrak yeast, pepton, glukosa, methanol (p.a.) dan aquadest.

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah sel bahan bakar mikroba, multimeter digital, nafion, pipet mikro, petridish, seng, kawat tembaga, incubator, jarum ose, autoklaf, inkubator, *hand blender*, *rotary evaporator* dan alat-alat gelas laboratorium. Instrumen kimia yang digunakan untuk menganalisis kandungan senyawa organik pada limbah padat penyulingan adalah GC-MS (Shimadzu).

### **Prosedur Penelitian**

#### **Preparasi mikroorganisme *E.coli***

Preparasi mikroorganisme *E.coli* terdiri dari pembuatan media pertumbuhan dan pembuatan inokulum. Media pertumbuhan yang digunakan merupakan campuran dari ekstrak yeast, pepton dan glukosa yang dilarutkan pada buffer fosfat. Dimana campuran larutan kemudian diproses dalam autoklaf. Pembuatan inokulum dilakukan terhadap media pertumbuhan yang telah dibuat, dengan cara mengambil 1 jarum ose biakan mikroba dari media padat (agar), kemudian diinokulasi ke dalam media pertumbuhan. Media pertumbuhan beserta mikroba yang telah diinokulasi selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. *E.coli* yang digunakan pada penelitian ini merupakan *E.coli* non pathogen yang terlarut dalam media buffer.

#### **Persiapan sel bahan bakar mikroba**

Sistem sel bahan bakar mikroba yang dipersiapkan terdiri dari 2 kompartemen dengan ukuran 15 cm x 15 cm x 15 cm, sebagian sekat antar kompartemen tersebut terdiri atas

nafion dengan ukuran 2 cm x 2 cm dan pada masing-masing kompartemen ditempatkan batangan seng serta jalinan kawat tembaga sebagai anoda dan katoda. Larutan NaCl 0,1 M sebagai elektrolit dimasukkan dengan penambahan buffer fosfat ke dalam kompartemen katoda dan anoda.

### **Pengukuran aktivitas *E.coli* dari arus listrik yang dihasilkan pada sel bahan bakar mikroba dengan berbagai limbah**

Limbah yang digunakan dalam penelitian ini merupakan limbah padat yang dihancurkan terlebih dahulu dengan menggunakan *hand blender*. Masing-masing limbah ini dimasukkan ke dalam kompartemen anoda pada reactor sel bahan bakar, dimana kompartemen katodanya adalah campuran larutan NaCl dan buffer fosfat pH netral. Ke dalam masing-masing kompartemen anoda ditambahkan larutan yang mengandung *E. coli* sebanyak 200  $\mu$ L, selanjutnya anoda dan katoda dihubungkan dengan multimeter. Pengukuran dilakukan sehingga kurva arus dari hasil percobaan selama 45 jam. Hasil yang diperoleh dari berbagai jenis limbah

dibandingkan dengan satu sama lain. Selanjutnya dilakukan juga pengujian terkait pengaruh konsentrasi substrat dengan arus yang dihasilkan dan dilanjutkan dengan uji T untuk melihat signifikansi kedua data yang diperoleh.

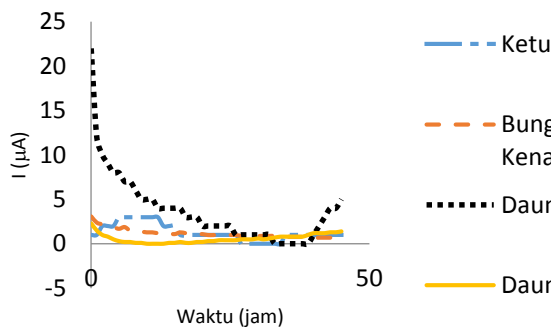
### **Analisis senyawa kimia dalam limbah**

Bahan alam yang mengandung minyak atsiri biasanya tidak lepas dari kandungan senyawa kimianya yang bersifat bioaktif terhadap bakteri. Oleh sebab itu, dalam penelitian ini juga dilakukan analisis kandungan yang tersisa setelah proses penyulingan, untuk mendapatkan informasi terkait bahan bioaktif tersebut. Sebelum dilakukan analisis, setiap sampel limbah diambil sebanyak 10 g kemudian diekstrak dengan metode maserasi dengan 50 mL metanol selama 48 jam. Selanjutnya ekstrak disaring dan filtrat ditampung untuk dipekatkan dengan rotary evaporator. Selanjutnya, ekstrak masing-masing sampel dianalisis kandungannya dengan gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Aktivitas mikroba dalam bentuk pengukuran arus listrik pada sistem sel bahan bakar mikroba

Perbandingan kinerja keempat substrat yang berasal dari limbah padat sisa penyulingan minyak atsiri dalam sistem sel bahan bakar mikroba dapat dilihat pada Gambar 1.



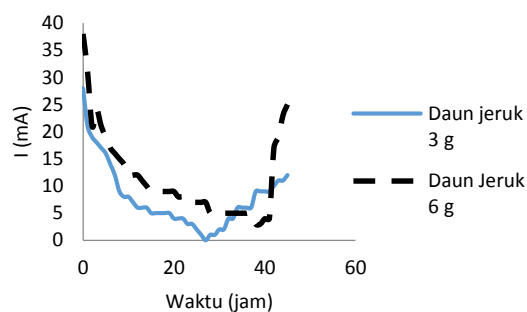
**Gambar 1.** Pengukuran arus listrik dalam sistem sel bahan bakar mikroba dengan *E.coli* menggunakan substrat yang berasal dari beberapa limbah penyulingan minyak atsiri

Gambar 1. Menunjukkan hubungan antara jenis substrat dan arus listrik (yang diasumsikan sebagai aktivitas *E.coli* pada anoda) yang dihasilkan pada sistem sel bahan bakar mikroba selama 45 jam dengan massa tiap substrat, kondisi sel bahan bakar (kompartemen dan elektroda), dan volume larutan dengan *E.coli* yang sama. Aktivitas *E.coli* dalam mengoksidasi substrat dapat diamati

berdasarkan aliran elektron yang ditunjukkan sebagai arus listrik. Pada sistem ini terlihat bahwa substrat yang berasal dari ketumbar, bunga kenanga dan daun sereh memiliki potensi untuk menghasilkan arus listrik yang lebih kecil yakni berkisar antara 0-3  $\mu\text{A}$  jika dibandingkan dengan substrat dari daun jeruk dimana arus listrik yang dihasilkan pada awal sistem dapat mencapai 20  $\mu\text{A}$ .

### Perbandingan arus listrik yang dihasilkan dari substrat dengan 2 konsentrasi yang berbeda

Pengamatan terkait efek dari konsentrasi substrat terhadap arus listrik yang dihasilkan dapat diamati pada Gambar 2.



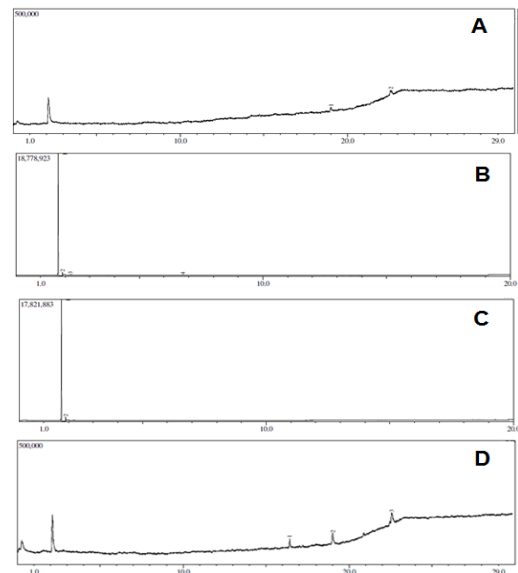
**Gambar 2.** Pengukuran arus dalam sel bahan bakar mikroba dengan variasi massa substrat daun jeruk

Grafik ini menunjukkan arus listrik yang dihasilkan dalam sistem sel bahan bakar selama 45 jam menggunakan limbah daun jeruk

dengan 2 massa yang berbeda dengan seluruh kondisi operasi yang sama. Dari Gambar 2. dapat diamati bahwa daun jeruk dengan massa yang lebih besar menunjukkan arus listrik (aktivitas bakteri) yang lebih tinggi dengan selisih arus awal sekitar  $10 \mu\text{A}$ . Jika kedua data dalam grafik tersebut dibandingkan satu sama lain dengan uji T yang mengasumsikan variansi berbeda (dari hasil uji F untuk kedua variansi menunjukkan nilai  $P < 0,05$ ), maka dapat diamati adanya perbedaan yang signifikan ( $t_{hitung} [2,51] > t_{crit.} [1,99]$ ) dari kedua data pengamatan tersebut yang dipengaruhi oleh variasi massa substrat dalam sel bahan bakar mikroba.

### Analisis kandungan senyawa kimia dengan GC-MS

Proses ekstraksi senyawa kimia yang terkandung pada limbah padat dilakukan menggunakan pelarut methanol yang memiliki tingkat kepolaran yang hampir mendekati air dan dianalisis dengan GC-MS. Kromatogram dari hasil analisis keempat limbah dapat dilihat pada Gambar 3.

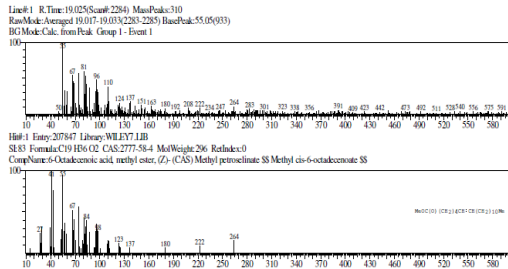


**Gambar 3.** Kromatogram ekstrak methanol dari (A) bunga kenanga (B) ketumbar (C) daun jeruk (D) daun sereh

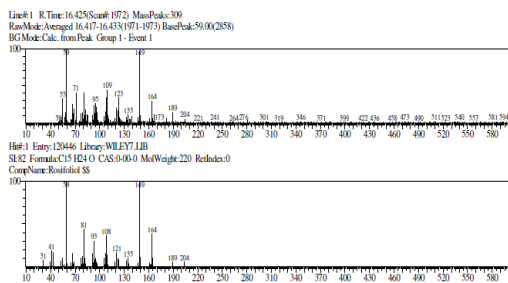
Dari keempat kromatogram tersebut menunjukkan bahwa tidak seluruh senyawa kimia yang terkandung dalam sampel limbah telah hilang selama proses penyulingan.

Hasil dari Kromatogram B dan C menunjukkan keberadaan senyawa kimia yang lebih sedikit dibandingkan hasil dari kromatogram A dan D, dimana hasil dari kromatogram B dan C menunjukkan adanya 2 puncak senyawa kimia yang dapat terdeteksi selain pelarut yang digunakan. Untuk mendapatkan informasi terkait senyawa-senyawa tersebut maka

digunakan analisis dengan spektra massa.



**Gambar 4.** Spektra massa asam oktadekanoat dalam kandungan ekstrak metanol bunga kenanga



**Gambar 5.** Spektra massa rosifoliol dalam ekstrak methanol daun sereh

Hasil spektra massa dari ekstrak ketumbar dan daun jeruk tidak menunjukkan teridentifikasinya senyawa kimia yang bersifat bioaktif. Namun, daun jeruk sebagai substrat dalam sel bahan bakar mikroba menunjukkan potensi dalam menghasilkan arus listrik yang lebih baik daripada ketumbar. Hal ini dapat dimungkinkan terjadi karena adanya kandungan karbohidrat sebagai salah satu bahan kimia yang dapat dioksidasi

oleh mikroba dalam sel bahan bakar. Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa karbohidrat pada pohon jeruk/tangerine biasanya terakumulasi pada akar dan daunnya (Moreira, R.A., *et al.*, 2013). Sedangkan arus listrik yang dihasilkan dari substrat ketumbar tidak terlalu tinggi dimungkinkan karena adanya senyawa kimia yang bersifat bioaktif terhadap bakteri *E.coli* namun tidak terdeteksi dalam ekstrak methanol.

Berbeda dengan spectra massa dari sampel limbah bunga kenanga (Gambar 4.) dan daun sereh (Gambar 5.), yang menunjukkan adanya puncak-puncak senyawa yang bersifat bioaktif seperti asam oktadekanoat dan asam propanadioat dalam ekstrak bunga kenanga serta rosifoliol, asam oktadekanoat dan fenol pada ekstrak daun sereh. Dimana penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa asam oktadekanoat memiliki sifat antibakteri (Rahman, *et al.*, 2014), begitu pula dengan senyawa rosifoliol (C.R., Unnithan, *et al.*, 2013) dan fenol (Burt, 2003) yang juga memiliki sifat bioaktif tersebut. Hal inilah yang mendasari lebih kecilnya arus listrik yang



dihasilkan dari daun sereh dan bunga kenanga dalam sistem sel bahan bakar mikroba.

## KESIMPULAN

Pengaruh berbagai jenis limbah penyulingan minyak atsiri sebagai substrat dalam sel bahan bakar mikroba terhadap aktivitas *E. coli* telah diamati selama masing-masing 45 jam. Di antara keempat substrat yang digunakan, senyawa kimia dalam daun jeruk menunjukkan pengaruh yang relative lebih positif terhadap aktivitas *E. coli* dalam menghasilkan arus listrik yakni mencapai 20  $\mu$ A. Pengamatan juga menunjukkan bahwa perbedaan massa substrat daun jeruk yang digunakan untuk sistem sel bahan bakar yang sama, berpengaruh signifikan terhadap arus listrik yang dihasilkan. Di samping itu, ketiga substrat lain yang digunakan; daun sereh, ketumbar dan bunga kenanga teramati kurang efektif jika digunakan sebagai substrat karena adanya kandungan senyawa yang bersifat antibakteri yang belum hilang selama proses penyulingan sehingga mengurangi aktivitas *E. coli* di anoda. Adanya senyawa yang bersifat

antibakteri dalam limbah ini dapat dimanfaatkan untuk keperluan pada bidang lain seperti budidaya perairan yang membutuhkan bahan-bahan antibakteri alami untuk melawan mikroorganisme non-probiotik.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Universitas Islam Indonesia yang telah memberikan Hibah Penelitian Internal melalui DPPM UII sebagai dukungan financial dalam penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Burt, S.A. and Reinders, R.D., 2003, Antibacterial Activity of Selected Plant Essential Oils Against *Escherichia coli* O157:H7, *Letters in Applied Microbiology*, 36, 162-167
- C.R., Unnithan, W., Dagnaw, S., Undrala and Ravi, S., 2013, Composition and Antibacterial Activity of Essential Oil of *Ocimum basilicum* of Northern Ethiopia, *Int. Res. J. Biological Sci.*, Vol. 2(9), p. 1-4
- Chouler, J., Padgett, G. A., Cameron, P. J., Preuss, K., Titirici, M., Ieropoulos, I., & Lorenzo, Di, M. (2016). Towards Effective Small Scale Microbial Fuel Cells for Energy Generation From Urine. *Electrochimica Acta*, 192, 89–98. <http://doi.org/10.1016/j.electacta>.

- 2016.01.112
- Dang, S.T.T. and Dalsgaard, A., 2012, Escherichia coli Contamination of Fish Raised in Integrated Pig-fish Aquaculture Systems in Vietnam, *J.Food Prot.*, Vol.75, no. 7 , 1317-1319
- Fitrinaldi. (2011). *Microbial Fuel Cell Sebagai Energi Alternatif Menggunakan Bakteri Escherichia Coli*. Universitas Andalas.
- Gude, V. G. (2016). Wastewater Treatment in Microbial Fuel Cells - An Overview. *Journal of Cleaner Production*. <http://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.02.022>
- Guo, X., Zhan, Y., Chen, C., Cai, B., Wang, Y., & Guo, S. (2016). Influence of packing material characteristics on the performance of microbial fuel cells using petroleum refinery wastewater as fuel. *Renewable Energy*, 87, 437–444. <http://doi.org/10.1016/j.renene.2015.10.041>
- He, Z., Liu, J., Qiao, Y., Li, C. M., Thatt, T., & Tan, Y. (2012). Architecture Engineering of Hierarchically Porous Chitosan/Vacuum-Stripped Graphene Scaffold as Bioanode for High Performance Microbial Fuel Cell. *Nano Letters*, 12, 4738–4741.
- Hou, Q., Pei, H., Hu, W., Jiang, L., & Yu, Z. (2016). Bioresource Technology Mutual facilitations of food waste treatment , microbial fuel cell bioelectricity generation and Chlorella vulgaris lipid production. *Bioresource Technology*, 203, 50–55. <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.12.049>
- Ishii, S. and Sadowsky, M.J., 2008, Escherichia coli in the Environment: Implications for Water Quality and Human Health, *Microbes Environ.*, vol. 23, no. 2, 101-108
- Moreira, R.A., et al., 2013, Carbohydrate Levels in The Leaves and Production Consistency of The Ponkam Tangerine When Thinned Out With Ethepon, *Rev. Cienc. Agron.*, v. 44, n.3, p. 571-577
- Odonkor, S.T. and Ampofo, J.K., 2013, Escherichia coli as An Indicator of Bacteriological Quality of Water: an Overview, *Microbiology Research*, 4:e2
- Rahman, M.M., Ahmad, S.H., Mohammed, M.T.M., and Ab Rahman, M.Z., 2014, Antimicrobial Compounds from Leaf Extracts of Jatropha curcas, Psidium Guava, and Andrographis paniculata, *The Scientific World Journal*, 2014: 635240 [doi:10.1155/2014/635240](http://doi.org/10.1155/2014/635240)
- Singh, R., Singh, R., Soni, S. K., Singh, S. P., Chauhan, U. K., & Kalra, A. (2013). Vermicompost from biodegraded distillation waste improves soil properties and essential oil yield of Pogostemon cablin ( patchouli) Benth. *Applied Soil Ecology*, 70, 48–56. <http://doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.04.007>
- Sumitra, O. dan Wijandi, S. 2003. *Memproduksi Minyak Atsiri Biji Pala*. <https://minyakatsiriindonesia.wordpress.com/atsiri-pala/omit-sumitra-dan-soesarsono-wijandi-ed/>. Diakses pada 15 Mei 2016.

