

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Tahap 1. Identifikasi dan Karakterisasi *Bacillus thuringiensis*

1. Sifat Koloni dan Sel *Bacillus thuringiensis*

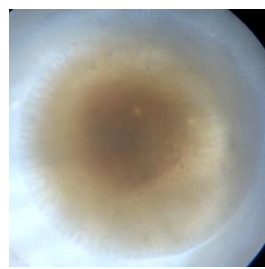
Bacillus thuringiensis merupakan salah satu bakteri pathogen bagi serangga. Bakteri ini bersifat gram positif, berbentuk batang, memiliki flagella, membentuk spora secara aerob dan selama sporulasi membentuk kristal protein paraspora yang berfungsi sebagai insektisida. Kristal protein ini dikenal dengan nama N-endotoksin(Shieh, 1994). Menurut Asliahalyas (2013) *B. thuringiensis* adalah bakteri yang menghasilkan kristal protein yang bersifat membunuh serangga (*insektisidal*) sewaktu mengalami proses sporulasinya. Menurut Gill *et al.* (1992) spora yang dihasilkan oleh *Bacillus thuringiensis* berbentuk oval dan berwarna terang, rata-rata memiliki dimensi 1,0 - 1,3 μm . Jika ditumbuhkan pada medium padat, koloni *Bacillus thuringiensis* berbentuk bulat dengan tepian permukaan koloni kasar (Bucher, 1981). Berikut adalah hasil identifikasi dan karakterisasi berkerut, memiliki diameter 5-10 mm, berwarna putih, elevasi timbul pada yang tersaji pada Tabel 3 dan Gambar 1.

Tabel 1. Karakterisasi *Bacillus thuringiensis*

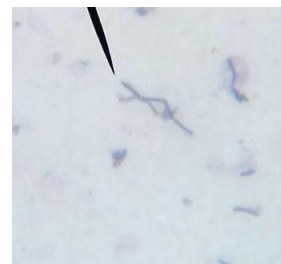
| Tingkat | Parameter | Karakterisasi | Karakterisasi * |
|---------|--|---|--|
| Koloni | Warna Bentuk koloni Bentuk elevasi Tepi Struktur dalam | <i>Cream</i> <i>Circular</i> <i>Law convex</i> <i>Entire</i> <i>Coarsely granular</i> | <i>Cream</i> <i>Circular</i> <i>Law convex</i> <i>Convex rugose</i> <i>Coarsely granular</i> |
| Sel | Sifat gram Bentuk sel Aerobisitas | Positif Basil/batang Aerob fakultatif | Positif Basil/batang Aerob fakultatif |

Keterangan : * Astuti dan Trisnawati (2017)

Berdasarkan hasil dari karakterisasi dan identifikasi *B. thuringiensis* yang telah dilakukan menunjukkan hasil yang sama yaitu warna, bentuk koloni, tepi, sifat gram, bentuk sel, dan aerobisitas dengan penelitian (Astuti dan Trisnawati, 2017). Hasil identifikasi koloni dan sel *B. thuringiensis* disajikan pada gambar 2.



(a) Struktur koloni



(b) Bentuk sel dan Sifat gram

Gambar 1. Hasil Identifikasi Koloni dan Sel *Bacillus thuringiensis*

Hasil karakterisasi dan identifikasi *B.thuringiensis* menunjukkan bahwa memiliki bentuk sel basil/batang dan memiliki sifat gram positif dengan ciri-ciri berwarna biru keunguan dan memiliki sifat aerobisitas yaitu aerob fakultatif. Menurut Enviren (2009) *B. thuringiensis* bersifat gram positif, aerob tetapi umumnya anaerob fakultatif. Menurut Klien, *et al.* (2007) bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang mengandung peptidoglikan dan juga asam teikoat dan asam teikuronat. Oleh sebab itu dinding sel bakteri Gram positif sebagian adalah polisakarida.

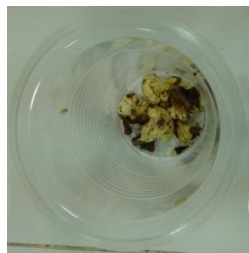
2. Uji Toksisitas *Bacillus thuringiensis* terhadap *Plutella xylostella*

Uji toksisitas *B. thuringiensis* pada larva *Plutella xylostella* dilakukan dengan memberikan makan 5 larva *Plutella xylostella* untuk masing-masing perlakuan dengan potongan bunga kol yang telah dicelupkan dalam suspensi isolat

bakteri umur 48 jam lalu selama beberapa menit dibiarkan kering udara. Perlakuan ini dibuat tiga kali ulangan.

Berdasarkan hasil yang telah dilakukan menunjukkan bahwa *B. thuringiensis* dapat membunuh 100 % larva *Plutella xylostella* dalam waktu 4 hari.

Uji toksisitas *B. thuringiensis* pada larva *Plutella xylostella* disajikan pada gambar 3.



Gambar 2. Larva *Plutella xylostella*

Hal ini dikarenakan *B. thuringiensis* mampu membentuk dan menghasilkan Kristal protein yang bersifat insektisidal sehingga mampu membunuh larva *Plutella xylostella*.

B. Tahap 2: Fermentasi Bacillus thuringiensis dalam Medium LCPKS dan Air Kelapa dengan Lantana camara

1. Perubahan fisik media setelah fermentasi

Penelitian ini dilakukan untuk mengembangkan bioinsektisida alami dengan membuat formula dari bahan alternatif yaitu limbah cair pabrik kelapa sawit dan Air Kelapa. Proses fermentasi dilakukan untuk mengetahui *B. thuringiensis* dapat tumbuh dan *L. camara* dapat menghasilkan senyawa aktif dan toksik yang paling efektif yang dapat digunakan untuk mengendalikan ulat api pada kelapa sawit.

Fermentasi adalah proses terjadinya penguraian senyawa-senyawa organik untuk menghasilkan energi serta terjadi perubahan substrat menjadi produk baru oleh mikroba (Madigan, 2011).

Dari percobaan fermentasi tersebut diketahui ada beberapa perubahan fisik dari awal sampai akhir fermentasi yaitu suhu, pH, warna, aroma dan TDS. Secara visual perubahan fisik yang terjadi selama fermentasi *B. thuringiensis* dan *L. camara* yang tersaji pada Tabel 4.

Tabel 2. Hasil Perubahan Fisik Media Alami LCPKS dan Air Kelapa Selama Fermentasi dengan *B.thuringiensis* dan *L. camara*

| Perlakuan | Suhu | | pH | | Warna | | Aroma | | TDS (ppm) |
|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|--|--------------------------------------|--------------------|--------------------|-----------|
| | Hari ke-0 | Hari ke-6 | Hari ke-0 | Har ke-6 | Sebelum fermentasi | Sesudah fermentasi | Sebelum fermentasi | Sesudah fermentasi | |
| A | 27,67c | 28,00b | 7,10a | 4,00b | 3/3 2,5 Y (<i>Dark Olive Brown</i>) | 3/3 10 YR (<i>Dark Brown</i>) | Daun Segar | Menyengat | 1020 |
| B | 28,00bc | 29,00ab | 6,33c | 3,77c | 5/6 2,5 Y (<i>Light Olive Brown</i>) | 3/3 10 YR (<i>Dark Brown</i>) | Daun Segar | Menyengat | 830 |
| C | 28,33abc | 29,33a | 6,70b | 4,07ab | 3/3 2,5 Y (<i>Dark Olive Brown</i>) | 2/2 10 YR (<i>Very Dark Brown</i>) | Daun Segar | Menyengat | 1360 |
| D | 28,67ab | 28,00b | 6,73b | 4,10a | 3/3 2,5 Y (<i>Dark Olive Brown</i>) | 3/3 10 YR (<i>Dark Brown</i>) | Daun Segar | Menyengat | 740 |
| E | 29,00a | 29,33a | 6,17d | 3,73c | 4/4 2,5 Y (<i>Olive Brown</i>) | 2/2 10 YR (<i>Very Dark Brown</i>) | Daun Segar | Menyengat | 660 |

Keterangan:

- A. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (1:0) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*
- B. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (1:3) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*
- C. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (1:1) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*
- D. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (3:1) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*
- E. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (0:1) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*

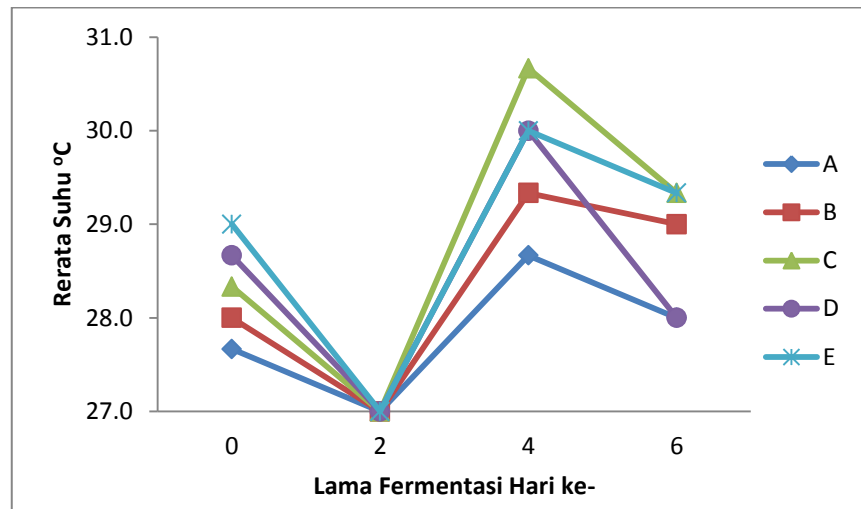
Selama proses fermentasi *Lantana camara* dan *Bacillus thuringiensis* dengan media alami mengalami perubahan fisik diantaranya adalah : warna, aroma, kekentalan dan pH.

a. Suhu

Suhu fermentasi sangat menentukan macam mikrobial yang dominan selama fermentasi. Fluktuasi suhu lingkungan sangat penting bagi organisme, karena pertumbuhan dan reproduksi organisme pada suhu tertentu. Suhu pertumbuhan optimal adalah suhu yang memberikan pertumbuhan terbaik dan perbanyak diri tercepat. Hasil pengukuran suhu disajikan pada tabel 4.

Berdasarkan tabel 4 menunjukkan bahwa ada beda nyata antar perlakuan pada hari ke-0 dan hari ke-6 (lampiran 6). Suhu tertinggi terdapat pada perlakuan perbandingan media alami LCPKS dan Air Kelapa (0:1) dengan fermentasi *B. thuringiensis*. Suhu terendah terdapat pada perlakuan perbandingan media alami LCPKS dan Air Kelapa (1:0) dengan fermentasi *B. thuringiensis*. Hal ini dikarenakan perbedaan media alami yang digunakan saat fermentasi sehingga terjadinya perbedaan suhu antar perlakuan. Menurut Ngan (2000) Limbah cair dari pabrik minyak kelapa sawit bersuhu tinggi 70-80 °C. Adapun fluktuasi suhu selama proses fermentasi disajikan dalam bentuk grafik pada Gambar 4.

Gambar 4 menunjukkan selama proses fermentasi *B. thuringiensis* dan *L. camara* dengan berbagai media alami mengalami perubahan suhu. Hari ke-6 pada perlakuan media alami LCPKS dan Air Kelapa (1:1) dengan *B. thuringiensis* dan perbandingan media alami LCPKS dan Air Kelapa (0:1) dengan *B. thuringiensis* memiliki suhu tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lain.



Gambar 3. Perubahan suhu media alami selama fermentasi *Lantana camara* dan *Bacillus thuringiensis*

Keterangan:

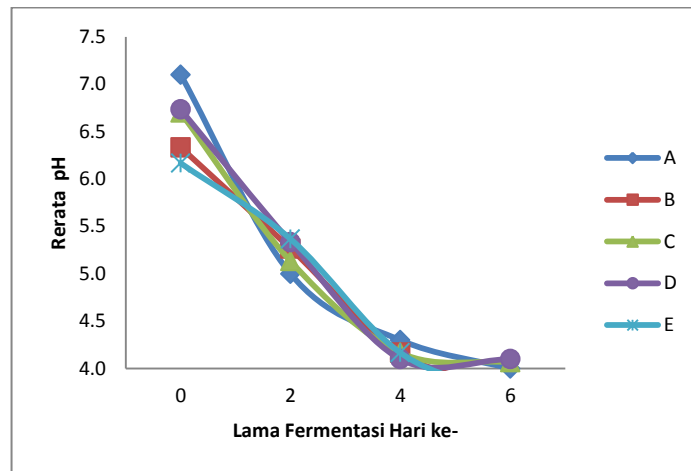
- A. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (1:0) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*
- B. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (1:3) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*
- C. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (1:1) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*
- D. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (3:1) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*
- E. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (0:1) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*

Penurunan suhu pada hari ke-6 diikuti dengan adanya penurunan aktivitas *B. thuringiensis* (Gambar 5). Pada suhu minimum dan suhu lebih tinggi dari maksimum akan memperlambat pertumbuhan bakteri. Hal ini dapat dilihat dari pengaruh suhu terhadap enzim, semakin tinggi suhu maka aktifitas enzim juga semakin cepat. Suhu yang terlalu tinggi akan mendenaturasi enzim sehingga sel bakteri akan mengalami fase kematian. Selama proses fermentasi *B. thuringiensis* telah merombak bahan organik yang mengakibatkan suhu mengalami peningkatan dan penurunan. Penurunan suhu juga dikarenakan *B. thuringiensis* telah merombak bahan organik yang ada pada daun *L. camara* yang tersedia menjadi

asam-asam organik. Perubahan suhu yang terjadi masih berada pada kisaran suhu pertumbuhan *B. thuringiensis*. Suhu untuk pertumbuhan *B. thuringiensis* berkisar antara 15°-40°C (Enviren, 2009). *B. thuringiensis* termasuk mikroba mesofil yang mempunyai suhu optimum 25°-37°C, dengan suhu minimum 15°C. Sehingga selama proses fermentasi *B. thuringiensis* masih dapat tumbuh dan berkembang.

b. pH

Laju pertumbuhan bakteri sangat tergantung pada pH, karena pH dapat mempengaruhi kinerja membran sel, enzim dan komponen intra seluler lainnya (Judoamidjojo *et al.*, 1989). Pertumbuhan sebagian organisme sangat peka terhadap perubahan pH karena setiap kelompok organisme mempunyai pH optimal sendiri yang tertentu. pH diperkirakan berpengaruh pada permeabilitas dinding sel dan laju pada reaksi enzim yang menempel pada dinding luar sel. Berdasarkan tabel 4 menunjukkan bahwa ada beda nyata antar perlakuan pada hari ke-0 (lampiran 6). pH tertinggi terdapat pada perlakuan perbandingan media alami LCPKS dan Air Kelapa (1:0) dengan fermentasi *B. thuringiensis*. Suhu terendah terdapat pada perlakuan perbandingan media alami LCPKS dan Air Kelapa (0:1) dengan fermentasi *B. thuringiensis*. Sedangkan pada hari ke-6 menunjukkan beda nyata antar perlakuan (lampiran 6). Menurut Direktorat Gizi Depkes RI (1988) kandungan pH dalam 100 ml Air Kelapa 4,27-6,17. Menurut Ngan (2000) mengemukakan bahwa LCPKS memiliki pH 4,7. Perubahan pH selama proses fermentasi disajikan dalam bentuk grafik pada gambar 5.



Gambar 4. Perubahan nilai pH selama fermentasi *Lantana camara* dan *Bacillus thuringiensis*.

Keterangan:

- A. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (1:0) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*
- B. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (1:3) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*
- C. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (1:1) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*
- D. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (3:1) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*
- E. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (0:1) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*

Hasil pengukuran pH media alami pada gambar 5 menunjukkan bahwa terjadi penurunan pH selama proses fermentasi. Penurunan pH diikuti dengan adanya penurunan aktivitas *B. thuringiensis* (Gambar 6). Pada hari terakhir fermentasi pH bersifat asam dengan kisaran pH minimum 3,7. Selama berlangsungnya proses fermentasi, pH media cenderung mengalami perubahan, Menurut Rahayu (2007) pada umumnya, semakin meningkatnya kandungan asam suatu bahan maka nilai pH akan semakin turun. Perubahan pH disebabkan oleh adanya asam-asam organik seperti asam laktat, asetat dan piruvat yang terbentuk selama proses fermentasi (Said, 1987). Adanya perubahan pH menunjukkan terjadinya proses

biodegradasi bahan organik. Aktivitas mikroorganisme pendegradasi memungkinkan terjadinya penurunan pH karena senyawa organik telah diuraikan menjadi asam organik. Hidrolisis senyawa organik terjadi dimana ion hydrogen berfungsi untuk mengkatalisis reaksi pemutusan ikatan pada polisakarida, lipid dan protein. Dengan demikian, melalui proses hidrolisis, senyawa organik makromolekul dalam LCPKS dan Air Kelapa dapat diuraikan menjadi senyawa yang lebih sederhana oleh bantuan mikroorganisme. Hasil hidrolisis senyawa organik selanjutnya akan mengalami proses asidogenesis dan asetogenesis. Proses asidogenesis dan asetogenesis terjadi penurunan pH yang disebabkan oleh adanya asam organik yang dihasilkan. Menurut Reed dan Pepler (1973), asam-asam yang terbentuk seperti asam asetat, asam piruvat, dan asam laktat dapat menurunkan pH, sedangkan asam-asam lainnya seperti asam butirat dan asam lemak lainnya hanya sedikit berpengaruh dalam penurunan pH cairan. Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan *Bacillus thuringiensis* masih dapat tumbuh pada media walaupun pH media bersifat asam karena *B. thuringiensis* dapat tumbuh pada medium yang memiliki pH pada kisaran 5,5 – 8,5 dan tumbuh optimum pada pH 6,5 – 7,5 (Benhard dan Utz, 1993).

c. Warna

Fermentasi adalah proses terjadinya penguraian senyawa-senyawa organik untuk menghasilkan energi serta terjadi pengubahan substrat menjadi produk baru oleh mikroba (Madigan, 2011). Selama proses fermentasi terjadi perubahan fisik karena adanya aktivitas mikrobial diantaranya yaitu terjadinya perubahan warna. Hasil pengamatan perubahan warna selama fermentasi disajikan pada tabel 4.

Berdasarkan hasil pengamatan yang telah dilakukan pada tabel 4 menunjukkan bahwa perubahan warna selama fermentasi terjadi terhadap semua perlakuan. Pada awal fermentasi memiliki warna *Dark Olive Brown* hingga berubah warna pada akhir fermentasi yaitu menjadi *Dark Brown*. Perubahan warna yang terjadi selama proses fermentasi dikarenakan adanya perubahan dari daun *L. camara* dan adanya pengaruh perbandingan limbah cair pabrik kelapa sawit (LCPKS) dan Air Kelapa. Daun *L. camara* mengandung klorofil yang berwarna hijau akan tetapi selama proses fermentasi daun *L. camara* telah mengalami degradasi yang mengakibatkan klorofil menjadi rusak dan kehilangan zat berwarna hijau yang menyebabkan terjadinya perubahan warna selama fermentasi. Klorofil yang rusak akan mengakibatkan terjadinya perubahan warna menjadi coklat dan lebih gelap. Menurut Astuti dan Trisnawati (2017) menunjukkan bahwa pada saat fermentasi telah terjadi reaksi pencoklatan (*browning*) yang melibatkan perubahan senyawa dalam jaringan dari bentuk kuinol menjadi kuinon melalui oksidasi

d. Aroma

Fermentasi dapat terjadi karena adanya aktivitas mikroba penyebab fermentasi pada substrat organik yang sesuai. Terjadinya fermentasi ini dapat menyebabkan perubahan sifat bahan pangan sebagai akibat dari pemecahan kandungan-kandungan bahan pangan (Winarno *et al.*, 1980). Hasil pengamatan perubahan aroma disajikan pada tabel 4.

Berdasarkan hasil pengamatan yang telah dilakukan pada tabel 4 menunjukkan bahwa terjadi perubahan aroma selama proses fermentasi. Pada

awal pengamatan aroma menunjukkan bahwa aroma seperti daun segar. Akan tetapi setelah difermentasi selama 6 hari telah mengalami perubahan aroma menjadi lebih menyengat seperti bau kotoran ayam. *Bacillus thuringiensis* merupakan bakteri proteolitik. Mikroba proteolitik dapat memecah protein dan komponen-komponen nitrogen lainnya sehingga menghasilkan bau busuk yang tidak diinginkan sedangkan mikroba lipolitik akan memecah atau menghidrolisa lemak, fosfolipida dan turunannya dengan menghasilkan bau yang tengik (Winarno *et al.*, 1980).

e. Total Zat Padat Terlarut (TDS)

Perubahan yang terjadi selama proses fermentasi diantaranya yaitu total zat padat terlarut. *Total dissolved solid* (TDS) merupakan padatan-padatan yang memiliki ukuran lebih kecil dibandingkan dengan padatan-padatan tersuspensi. Zat padatan terlarut terdiri atas zat organik, garam organik dan gas terlarut. Total zat padat terlarut di ukur pada awal dan akhir fermentasi menggunakan TDS meter dengan mencelupkan ujung alat kedalam air. Semakin rendah TDS maka akan semakin bagus kualitas air.

Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan pada tabel 4 menunjukkan bahwa nilai TDS mengalami peningkatan. Nilai TDS tertinggi sebesar 1380 pada perlakuan perbandingan media alami LCPKS dan Air Kelapa (3:1) dengan fermentasi *B. thuringiensis*. Kenaikan nilai TDS ini menunjukkan bahwa bahan organik yang berukuran kecil belum terdegradasi secara sempurna menjadi gas dan adanya peningkatan biomassa mikroorganisme yang berukuran lebih kecil. Menurut Retnosari dan Shovitri (2013) mengemukakan bahwa penurunan nilai

kandungan TDS disebabkan pada partikel terlarut telah terkonversi ke dalam bentuk gas yang dikeluarkan sebagai hasil samping proses biodegradasi oleh mikroorganisme. Sedangkan menurut Doraja dkk, (2012) menunjukkan bahwa kenaikan nilai TDS menunjukkan bahwa bahan organik yang berukuran kecil belum terdegradasi secara sempurna menjadi gas dan adanya peningkatan mikroorganisme.

2. Dinamika Pertumbuhan *B.thuringiensis* Pada Media Alami LCPKS dan Air Kelapa Selama Fermentasi

Dinamika pertumbuhan *B. thuringiensis* selama proses fermentasi dilakukan dengan metode *Total Plate Count*. Hasil sidik ragam pertumbuhan *B. thuringiensis* tersaji pada Tabel 5.

Tabel 3. Hasil sidik ragam pertumbuhan *B. thuringiensis* pada media alami selama proses fermentasi.

| Perlakuan | Jumlah total <i>B. thuringiensis</i> 10 ⁸ cfu/ml | | | |
|-----------|---|-----------|-----------|-----------|
| | Hari ke-0 | Hari ke-2 | Hari ke-4 | Hari ke-6 |
| A | 53,00 | 420,00a | 39,25a | 24,87a |
| B | 33,70 | 3,80b | 41,50a | 5,45a |
| C | 53,67 | 4,60b | 21,50a | 13,10a |
| D | 21,85 | 45,50b | 27,70a | 25,05a |
| E | 3,35 | 3,95b | 25,47a | 5,50a |

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada setiap kolom, menunjukkan tidak ada beda nyata pada jenjang 5 % berdasarkan uji DMRT

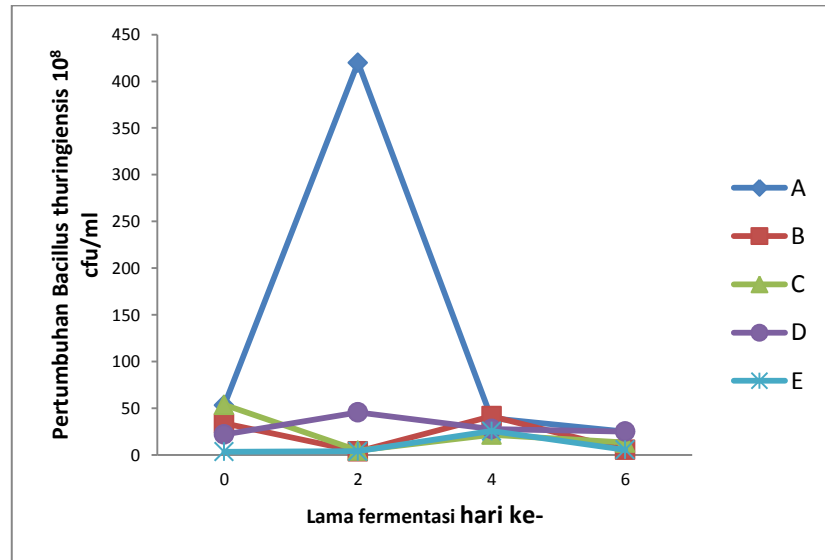
Keterangan:

- A. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (1:0) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*
- B. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (1:3) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*
- C. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (1:1) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*
- D. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (3:1) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*
- E. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (0:1) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*

Pada tabel 5, berdasarkan hasil sidik ragam pertumbuhan *B. thuringiensis* menunjukkan bahwa tidak ada beda nyata pada hari ke-6 terhadap semua perlakuan (Lampiran 6). Populasi *B. thuringiensis* tertinggi hari terakhir pada perlakuan perbandingan media alami LCPKS dan Air Kelapa (3:1) dengan fermentasi *B. thuringiensis*. LCPKS dan Air Kelapa mengandung berbagai senyawa terlarut termasuk serat-serat pendek, hemiselulosa dan turunannya, protein, asam organik dan campuran mineral mineral yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber makanan untuk proses pertumbuhan *B. thuringiensis*. Berdasarkan penelitian Astuti dan Trisnawati (2017) menunjukkan pertumbuhan *B. thuringiensis* paling baik adalah pada *L. camara* 10 % dengan 6 hari fermentasi.

Hal ini menunjukkan bahwa kandungan senyawa yang terdapat pada *L. camara* yaitu *alkaloidslantanine*, *flavonoids* dan juga *triperenoids* diduga dapat memberikan nutrisi terhadap pertumbuhan *B. thuringiensis*. Menurut Setiawan dkk, (2010) diperoleh hasil bahwa formulasi dengan campuran ekstrak gulma *Tithonia* 10 % merupakan formulasi terbaik untuk mengembangkan bakteri *Bacillus thuringensis*. Menurut Alavie dkk, (2017) menunjukkan bahwa formulasi media NA dengan konsentrasi 10 % daun *L. camara* yang di fermentasi selama 6 hari merupakan formulasi terbaik untuk mengembangkan *B.thuringiensis*. *Lantana camara* merupakan gulma potensial pada budidaya tanaman, tumbuhan ini dapat dimanfaatkan sebagai sumber bahan pestisida nabati karena mengandung bahan-bahan aktif seperti senyawa *alkaloidslantanine*, *flavanoids* dan juga *triterpenoids* yang diduga dapat memberikan nutrisi terhadap pertumbuhan *B.*

thuringiensis. Adapun dinamika populasi *B. thuringiensis* selama fermentasi disajikan dalam bentuk grafik pada gambar 6.



Gambar 5. Dinamika populasi *B. thuringiensis* pada media LCPKS dan Air Kelapa dengan campuran *Lantana camara*

Keterangan:

- A. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (1:0) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*
- B. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (1:3) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*
- C. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (1:1) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*
- D. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (3:1) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*
- E. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (0:1) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*

Berdasarkan gambar 6 menunjukkan bahwa pertumbuhan *B. thuringiensis* mengalami peningkatan dan penurunan. Pertumbuhan *B. thuringiensis* mengalami peningkatan yang paling tinggi pada hari ke-2 pada perlakuan perbandingan media alami LCPKS dan Air Kelapa (1:0) dengan fermentasi *B. thuringiensis* akan tetapi terus mengalami penurunan sampai hari terakhir fermentasi. Media yang digunakan berupa limbah cair pabrik kelapa sawit dan Air Kelapa yang

mampu mengembangkan *B. thuringiensis*. Hasil penelitian Dwi Wahyuono (2015) limbah cair pabrik kelapa sawit dapat digunakan sebagai media pengembangan *B. thuringiensis*. Penggunaan media alternatif LCPKS 100 % + 0,4 g gula merah + 30 ml Air Kelapa + *B. thuringiensis* memberikan hasil terbaik sebagai bioinsektisida hayati.

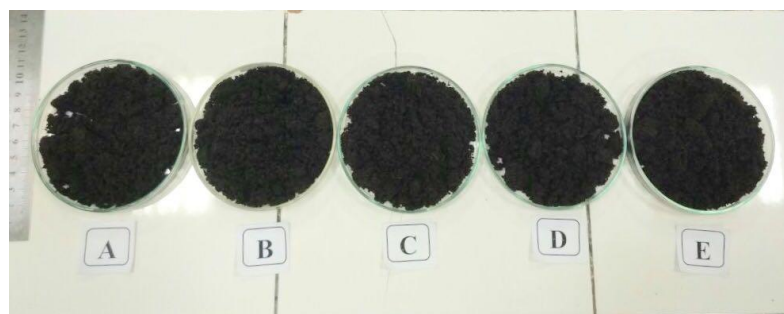
Bacillus thuringiensis mempunyai dua fase pertumbuhan, yaitu fase germinasi (pertumbuhan vegetatif) dan fase sporulasi. Fase germinasi terjadi pada saat bakteri berada pada lingkungan yang kaya nutrient. Pada fase ini, sel akan memperbanyak diri dengan cara membelah diri.

C. Tahap 3 : Ekstraksi padatan hasil fermentasi *Lantana camara* dan *Bacillus thuringiensis*

Ekstraksi merupakan suatu proses penarikan senyawa metabolit sekunder dengan bantuan pelarut. Ekstraksi akan lebih cepat dilakukan pada suhu tinggi, tetapi hal ini dapat mengakibatkan beberapa komponen mengalami kerusakan (Harbone 1987). Ekstraksi yang telah dilakukan yaitu berupa padatan hasil fermentasi *Lantana camara* dengan *Bacillus thuringiensis*. Padatan hasil fermentasi kemudian dimaserasi terlebih dahulu sesuai pelarut.

Menurut Harmita (2008), maserasi merupakan cara sederhana yang dapat dilakukan dengan cara merendam simplisia dalam pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat-zat aktif sehingga zat aktif akan larut. Pelarut yang digunakan disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang diinginkan. Sari (2011) menyatakan bahwa pemilihan berbagai pelarut yang digunakan untuk ekstraksi harus tepat agar dapat menarik senyawa yang dikehendaki. Hasil penelitian Firdiani dkk. (2015) menunjukkan

bahwa hasil rendemen ekstraksi mikroalga *Spirulina plantetis* dengan pelarut Aseton sebesar 1,86 % dalam bentuk kering. Padatan hasil fermentasi yang akan digunakan untuk maserasi disajikan pada gambar 7.

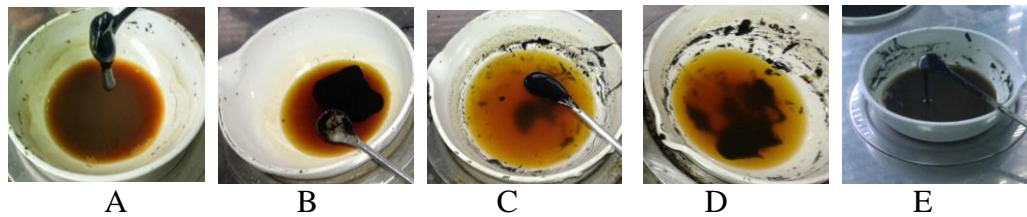


Gambar 6. Padatan Hasil Fermentasi

Keterangan:

- A. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (1:0) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*
- B. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (1:3) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*
- C. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (1:1) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*
- D. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (3:1) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*
- E. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (0:1) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*

Gambar 7 menunjukkan bahwa padatan hasil fermentasi yang akan digunakan untuk maserasi dengan berbagai pelarut. Setelah dimaserasi kemudian diambil ekstrak pekat yang dilakukan dengan cara menyaring larutan menggunakan kertas saring. Ekstrak pekat yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam *rotary evaporator* untuk diekstraksi hingga mendapatkan filtrat yang lebih pekat. Filtrat pekat yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam cawan dan dipanaskan menggunakan *waterbath* untuk mendapatkan ekstrak yang lebih pekat berupa seperti padatan. Hasil ekstraksi disajikan pada gambar 8.



Gambar 7. Padatan Hasil Ekstraksi

Keterangan:

- A. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (1:0) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*
- B. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (1:3) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*
- C. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (1:1) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*
- D. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (3:1) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*
- E. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (0:1) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*

Gambar 8 menunjukkan bahwa hasil padatan yang diperoleh dari hasil ekstraksi menggunakan *rotary evaporator*. Hasil yang diperoleh dari ekstraksi berbeda-beda karena adanya perbedaan berat padatan yang digunakan serta macam pelarut yang digunakan untuk ekstraksi

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Metanol, Etanol dan Aseton. Senyawa metabolit sekunder yang akan diambil pada daun *Lantana camara* bersifat polar sehingga proses ekstraksi menggunakan pelarut polar. Hasil pengamatan ekstraksi disajikan pada tabel 6.

Tabel 4. Pengaruh jenis pelarut terhadap rendemen ekstrak daun *L. camara*

| Perlakuan | Berat Padatan (g) | Padatan Hasil Ekstraksi (g) | Jumlah <i>Emulsifier</i> (ml) | Berat Padatan setelah ditambahkan <i>Emulsifier</i> (g) | Hasil Rendemen Pasta (%) |
|-----------|-------------------|-----------------------------|-------------------------------|---|--------------------------|
| A Metanol | 130,78 | 3,55 | 5,00 | 6,63 | 5,07 |
| B Metanol | 119,41 | 4,88 | 6,00 | 11,41 | 9,56 |
| C Metanol | 120,60 | 5,37 | 6,00 | 9,16 | 7,60 |
| D Metanol | 124,52 | 5,18 | 5,00 | 9,06 | 7,28 |
| E Metanol | 116,45 | 3,89 | 4,00 | 5,92 | 5,08 |
| A Etanol | 136,20 | 8,92 | 4,50 | 8,80 | 6,46 |
| B Etanol | 110,71 | 6,87 | 5,00 | 5,04 | 4,55 |
| C Etanol | 131,39 | 6,35 | 5,00 | 4,22 | 3,21 |
| D Etanol | 119,50 | 4,83 | 5,00 | 10,88 | 9,10 |
| E Etanol | 117,00 | 5,11 | 6,00 | 8,69 | 7,43 |
| A Aseton | 125,83 | 10,20 | 5,00 | 12,99 | 10,32 |
| B Aseton | 139,50 | 8,67 | 20,00 | 20,93 | 15,00 |
| C Aseton | 114,16 | 6,52 | 5,00 | 8,17 | 7,16 |
| D Aseton | 127,12 | 8,12 | 5,00 | 11,02 | 8,67 |
| E Aseton | 117,00 | 4,49 | 4,00 | 8,13 | 6,95 |

Keterangan:

- A. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (1:0) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*
- B. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (1:3) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*
- C. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (1:1) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*
- D. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (3:1) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*
- E. Perbandingan Media Alami LCPKS dan Air Kelapa (0:1) dengan Fermentasi *B. thuringiensis*

a. Berat Padatan Hasil Fermentasi

Berdasarkan tabel 6 menunjukkan bahwa berat padatan hasil fermentasi setiap perlakuan berbeda-beda tergantung dari hasil yang diperoleh saat fermentasi diikuti dengan jumlah padatan yang diperoleh setelah ekstraksi. perlakuan

perbandingan media alami LCPKS dan Air Kelapa (1:3) memiliki berat padatan sebanyak 139,5 gram dengan pelarut Aseton. Kemudian diikuti dengan hasil padatan yang diperoleh setelah diekstraksi sebanyak 8,67. Hal ini menunjukkan bahwa pelarut Aseton dapat mengekstrak senyawa-senyawa bioaktif yang terkandung pada padatan daun *L. camara*. Hal ini diikuti dengan rendemen yang didapatkan sebanyak 15 %. Hasil ini menunjukkan bahwa adanya senyawa bioaktif yang dapat larut dengan pelarut Aseton sehingga rendemen yang didapatkan tinggi. Menurut sari (2011) menyatakan bahwa pemilihan berbagai pelarut yang digunakan untuk ekstraksi harus tepat agar dapat menarik senyawa yang dikehendaki. Sedangkan perbandingan media alami LCPKS dan Air Kelapa (1:3) dengan pelarut etanol sebanyak 110,71 gram diikuti dengan hasil padatan yang diperoleh setelah ekstraksi sebanyak 6,87 gram. Hal ini menunjukkan bahwa pelarut Etanol dapat mengekstrak senyawa yang terkandung dalam padatan hasil fermentasi *Lantana camara* dan *Bacillus thuringiensis* cukup baik.. Hal ini juga diikuti dengan jumlah rendemen yang didapatkan sebanyak 7,43 %. Hasil ini menunjukkan bahwa pelarut Etanol dapat mengekstrak senyawa yang lebih banyak dengan tingkat kepolaran yang sama. Menurut Sudarmaji (2003) Etanol dapat mengekstrak senyawa aktif lebih banyak dibandingkan jenis pelarut organik lainnya.

b. Padatan Hasil Ekstraksi

Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi yaitu berupa pelarut polar seperti Metanol, Etanol dan Aseton . Pelarut Metanol merupakan pelarut yang mampu mengikat semua komponen kimia yang terdapat pada tumbuhan bahan alam, baik

yang bersifat polar, semi polar dan polar. Etanol merupakan pelarut polar yang banyak digunakan untuk mengekstrak komponen polar dari suatu bahan alam dan dikenal sebagai pelarut universal. Aseton merupakan keton yang paling sederhana, digunakan sebagai pelarut polar dalam kebanyakan reaksi organik. Aseton yang bersifat polar akan menarik senyawa yang bersifat polar sampai non polar. Pelarut yang digunakan yaitu sebanyak 1:5. Padatan hasil fermentasi yang telah dimaserasi mengalami penyusutan.

Berdasarkan tabel 6 menunjukkan bahwa perlakuan perbandingan media alami LCPKS dan Air Kelapa (1:0) dengan pelarut Aseton memiliki jumlah padatan tertinggi setelah ekstraksi sebanyak 10,20 gram. Hal ini menunjukkan bahwa adanya senyawa bioaktif yang dapat larut dengan pelarut Aseton sehingga jumlah padatan yang diperoleh lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lain. Nilai Dipol Aseton 2,91 dan sifatnya lebih polar dibandingkan Metanol dan Etanol sehingga banyaknya senyawa aktif yang terekstrak menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki sifat kepolaran yang sama dengan Aseton. Sedangkan perlakuan perbandingan media alami LCPKS dan Air Kelapa (1:0) dengan pelarut Metanol. Hal ini menunjukkan bahwa pelarut metanol mampu mengekstrak senyawa yang didasarkan pada kesamaan sifat kepolaran terhadap pelarut.

c. Jumlah *Emulsifier*

Setelah dilakukan ekstraksi ekstrak pekat *Lantana camara* tidak dapat mengental secara sempurna seperti pasta sehingga adanya penambahan emulsifier. Emulsifier atau zat pengemulsi adalah zat untuk membantu menjaga kestabilan

emulsi minyak dan air. Umumnya emulsifier merupakan senyawa organik yang memiliki dua gugus, baik yang polar maupun nonpolar sehingga kedua zat tersebut dapat bercampur. Penambahan emulsifier setiap perlakuan berbeda-beda. Hal ini dipengaruhi oleh jumlah ekstrak yang dihasilkan.

Berdasarkan tabel 7 menunjukkan bahwa penambahan emulsifier terbanyak yaitu sebanyak 20 ml dan penambahan emulsifier terendah yaitu 4 ml. penambahan emulsifier yang berbeda-beda dikarenakan sifat kepolaran pelarut yang berbeda-beda. Ekstrak pekat *L. camara* yang tidak dapat mengental seperti pasta dikarenakan adanya perbedaan polaritas dari pelarut dan senyawa yang terkandung dalam *L. camara*. Sebelum dilakukan ekstraksi, daun *L. camara* telah difermentasi terlebih dahulu selama 6 hari. Media yang digunakan untuk fermentasi yaitu perbandingan LCPKS dan Air Kelapa. LCPKS merupakan limbah cair pabrik kelapa sawit yang mengandung padatan terlarut dan tersuspensi berupa koloid dan residu minyak dengan BOD (*biological oxygen demand*) dan COD (*chemical oxygen demand*) yang tinggi. Minyak yang terkandung dalam LCPKS ini bersifat non polar sehingga pada saat difermentasi dengan daun *L. camara* dan *B. thuringiensis* akan mengendap pada daun *L. camara*. Sehingga pada saat ekstraksi ekstrak pekat daun *L. camara* tidak dapat mengental secara sempurna. Hal ini dikarenakan perbedaan sifat polar dan non polar dari pelarut dan senyawa yang terkandung pada padatan hasil fermentasi *L. camara* dan *B. thuringiensis*.

d. Berat Padatan Setelah Ditambahkan *Emulsifier*

Berat padatan yang telah ditambahkan oleh *Emulsifier* seharusnya bertambah karena adanya penambahan bahan pada padatan. Akan tetapi pada penelitian ini terjadi peningkatan dan penurunan berat padatan setelah ditambahkan *Emulsifier*.

Berdasarkan tabel 6 menunjukkan bahwa perlakuan perbandingan media alami LCPKS dan Air Kelapa (1:3) dengan pelarut Aseton memiliki berat padatan yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya yaitu sebesar 20,93 gram. Penambahan *Emulsifier* yang diberikan pada perlakuan ini juga lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan lainnya sehingga berat padatan menjadi lebih banyak. Penambahan *Emulsifier* yaitu sebanyak 20 ml. Hal ini dikarenakan atom hidrogen pada pelarut Aseton yang terikat pada atom karbon yang sangat sukar diputuskan. Sehingga mengakibatkan padatan yang diperoleh dari hasil ekstraksi sulit untuk mengental menjadi pasta. Sedangkan perlakuan media alami LCPKS dan Air Kelapa (1:1) dengan pelarut Etanol memiliki berat padatan terendah dibandingkan perlakuan lainnya yaitu sebanyak 4,22 gram. Selain itu juga pada perlakuan ini menunjukkan bahwa setelah ditambahkan *Emulsifier* sebanyak 5 ml berat padatan tidak bertambah, akan tetapi terjadi penurunan berat padatan. Hal ini dikarenakan sifat Etanol yang mudah menguap sehingga menyebabkan terjadinya penurunan berat padatan.

e. Hasil Rendemen Pasta

Rendemen adalah perbandingan jumlah (kuantitas) minyak yang dihasilkan dari ekstraksi tanaman aromatik. Semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan

menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak. Pengaruh jenis pelarut akan mempengaruhi ekstrak daun *Lantana camara*.

Berdasarkan tabel 6 menunjukkan bahwa rendemen tertinggi diperoleh pada perlakuan ekstrak *L. camara* yang telah difermentasi oleh *B. thuringiensis* dengan media alami LCPKS dan Air Kelapa (1:3) menggunakan pelarut Aseton sebesar 15 %. Tingginya rendemen ekstrak daun *L. camara* dikarenakan adanya senyawa bioaktif pada ekstrak daun *Lantana camara* dengan pelarut Aseton menunjukkan senyawa tersebut mempunyai kepolaran yang sama dengan Aseton. Hasil penelitian Suryani dkk (2015) menunjukkan bahwa ekstraksi daun Matoa dengan pelarut Aseton memiliki rendemen sebanyak 24,47 % karena ekstrak daun Matoa dengan pelarut Aseton mengandung senyawa-senyawa bioaktif yang dapat berfungsi sebagai antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan pelarut lainnya. Menurut Harbone (1987) terdapat senyawa-senyawa metabolit sekunder yang mudah larut dalam pelarut Aseton seperti klorofil dan beberapa senyawa polifenol yang berfungsi sebagai antioksidan. Sedangkan rendemen terendah diperoleh pada perlakuan ekstrak *L. camara* yang telah difermentasi oleh *B. thuringiensis* dengan media alami LCPKS dan Air Kelapa (1:1) dengan pelarut Etanol. Hal ini dikarenakan pelarut hanya mampu mengekstrak senyawa yang terkandung dalam *L. camara* hanya sedikit. Tingkat kepolaran pelarut dan senyawa yang terkandung pada padatan *L. camara* yang berbeda-beda berdampak pada senyawa yang dihasilkan saat ekstraksi.

Menurut prinsip polarisasi, suatu senyawa akan larut pada pelarut yang mempunyai kepolaran yang sama (Harbone, 1987). Pada perlakuan ini sebelum

dilakukan maserasi telah dilakukan fermentasi terlebih dahulu selama 6 hari. Akan tetapi media yang digunakan untuk fermentasi berupa limbah cair pabrik kelapa sawit (LCPKS) sehingga akan berpengaruh terhadap senyawa aktif yang terkandung dalam daun *L. camara*.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dan berdasarkan pengamatan semua parameter saling terkait satu sama lain. Selama proses fermentasi *B. thuringiensis* telah merombak bahan organik yang mengakibatkan suhu mengalami peningkatan dan penurunan. Penurunan suhu juga dikarenakan *B. thuringiensis* telah merombak bahan organik yang ada pada daun *L. camara* yang tersedia menjadi asam-asam organik, hal ini juga diikuti dengan penurunan pH yang menunjukkan terjadinya biodegradasi bahan organik.

Adanya biodegradasi bahan organik oleh aktivitas bakteri juga menyebabkan terjadinya perubahan warna karena selama proses fermentasi bakteri telah mendegradasi *L. camara* yang mengakibatkan klorofil menjadi rusak dan kehilangan zat warna hijau yang menyebabkan terjadinya perubahan warna selama proses fermentasi. Adanya aktivitas *B. thuringiensis* selama proses fermentasi juga berpengaruh terhadap perubahan aroma dan TDS. *B. thuringiensis* merupakan bakteri proteolitik yang dapat memecah protein dan komponen-komponen nitrogen lainnya sehingga menghasilkan bau busuk atau menyengat pada akhir fermentasi. Adanya kenaikan nilai TDS menunjukkan bahwa bahan organik yang berukuran kecil belum terdegradasi secara sempurna menjadi gas dan adanya peningkatan mikroorganisme.

Selama proses fermentasi telah adanya aktivitas *B. thuringiensis* yang dapat merombak *L. camara*. Selain itu juga *B. thuringiensis* dapat memanfaatkan kandungan sumber karbon dari LCPKS, Air Kelapa dan *L. camara* yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber makanan. Sehingga dengan adanya aktivitas *B. thuringiensis* akan menghasilkan senyawa aktif pada daun *L. camara*. Untuk mendapatkan senyawa yang lebih aktif maka dilakukan ekstraksi dengan berbagai pelarut. Hasil menunjukkan bahwa ekstraksi padatan hasil fermentasi *L. camara* dan *B. thuringiensis* dengan perbandingan media alami LCPKS dan Air Kelapa (1:3) dengan pelarut Aseton dengan rendemen tertinggi 15 %. Hal ini menunjukkan bahwa selama proses fermentasi *B. thuringiensis* dapat memecah senyawa aktif pada daun *L. camara* kemudian dilakukan dengan proses ekstraksi agar hasil bahan aktif yang dihasilkan lebih banyak. Tingginya rendemen ekstrak padatan hasil fermentasi *L. camara* dan *B. thuringiensis* dikarenakan adanya senyawa bioaktif pada daun *L. camara* dengan pelarut Aseton menunjukkan senyawa tersebut mempunyai kepolaran yang sama dengan Aseton.