

LAPORAN PENELITIAN

**PENGOLAHAN LIMBAH CAIR INDUSTRI TEPUNG AREN
MENJADI *BACTERIAL CELLULOSE* (BC): TINJAUAN
TERHADAP PENURUNAN KADAR PENCEMAR**



Disusun oleh:

ARINI WIJAYANTI (3335200009)

BAGUS TRI CUYUNDA (3335200046)

**JURUSAN TEKNIK KIMIA – FAKULTAS TEKNIK
UNIVERSITAS SULTAN AGENG TIRTAYASA
CILEGON – BANTEN**

2024

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangani dibawah ini:

Nama : Bagus Tri Cuyunda

NIM : 3335200046

Jurusan : Teknik Kimia

Judul : Pengolahan Limbah Cair Industri Tepung Aren Menjadi *Bacterial Cellulose (BC)*: Tinjauan Terhadap Penurunan Kadar Pencemar

Menyatakan bahwa penelitian dengan judul tersebut adalah benar karya saya dengan arahan pembimbing dan tidak ada duplikasi dengan karya orang lain kecuali telah disebutkan sumbernya.

Apabila dikemudian hari saya terbukti melakukan plagiasi dalam penelitian ini, saya bersedia menerima konsekuensi sesuai dengan perundang-undangan yang berlaku.

Cilegon, 9 Desember 2024



LAPORAN PENELITIAN

PENGOLAHAN LIMBAH CAIR INDUSTRI TEPUNG AREN MENJADI *BACTERIAL CELLULOSE* (BC) : TINJAUAN TERHADAP PENURUNAN KADAR PENCEMAR

disusun oleh:

ARINI WIJAYANTI (3335200009)
BAGUS TRI CUYUNDA (3335200046)

Telah Disetujui Oleh Dosen Pembimbing dan Telah dipertahankan di hadapan
Dewan Penguji

Pada Tanggal 22 Desember 2023

Dosen Pembimbing



Prof. Dr. Rahmayetty, S.T., M.T.
NIP. 197410021999032003

Dosen Penguji I

Dosen Penguji II



Dr. Nuryoto, S.T., M.Eng
NIP. 197609152006041007



Dhena Ria Barleany, S.T., M.Eng
NIP. 198203152005012002

Mengetahui,
Ketua Jurusan Teknik Kimia



Dr. Heri Heriyanto, S.T., M.Eng
NIP. 197510222005011002

ABSTRACT

PROCESSING OF PALM FLOUR INDUSTRY LIQUID WASTE INTO *BACTERIAL CELLULOSE (BC)*: A REVIEW OF POLLUTION LEVEL REDUCTION

By:

Arini Wijayanti 3335200009

Bagus Tri Cuyunda 3335200046

Lebak Regency, located in Banten Province, is the largest producer of palm sugar in Indonesia. In the process of processing palm stems into palm flour, liquid waste will be produced. In the production process, the liquid waste produced is directly discharged into the river without further treatment, thus endangering the surrounding ecosystem. Liquid waste from the palm flour industry contains carbon and nitrogen as macronutrients and metal ions as micronutrients for bacterial growth. Because of its content, liquid waste from palm sugar can be used as a medium for bacterial growth. The purpose of this study was to obtain operating conditions that produce the highest COD and BOD reduction in the process of utilizing liquid waste from palm flour into BC and to obtain BC with the best quantity. The method used was the batch fermentation method with variables that were varied, namely sucrose with variations (0, 25, 50, 75, and 100 grams) and media pH (3,4,5 and 6). The stages of the process in this study began with the manufacture of *Acetobacter xylinum* starter, fermentation of liquid waste from palm sugar, harvesting and washing of bacterial cellulose, bacterial cellulose products (Nata de arenga) and product testing. The product tests that will be carried out are the thickness and pH of the medium during the fermentation process and testing for COD, BOD, and FTIR values on BC. The results of this study indicate that the optimum BC conditions were obtained at a medium pH of 4, the addition of 100 grams of sucrose, a BC thickness of 1.5125 cm and a culture time of 15 days. Furthermore, the highest reduction in pollutant levels in the form of COD and BOD was obtained at a medium pH of 5 and the addition of 100 grams of sucrose. FT-IR analysis shows that BC has four main peaks with a wave number range of 1,030; 1,321; 2,022-2,164, and 3,337 cm⁻¹.

Keywords: fermentation, pollutant levels, palm sugar liquid waste

ABSTRAK

PENGOLAHAN LIMBAH CAIR INDUSTRI TEPUNG AREN MENJADI *BACTERIAL CELLULOSE* (BC) : TINJAUAN TERHADAP PENURUNAN KADAR PENCEMAR

Oleh:

Arini Wijayanti 3335200009

Bagus Tri Cuyunda 3335200046

Kabupaten Lebak, yang berada di Provinsi Banten merupakan penghasil gula aren terbesar di Indonesia. Dalam proses pengolahan batang aren menjadi tepung aren akan dihasilkan limbah cair. Dalam proses produksinya limbah cair aren yang dihasilkan langsung dibuang ke sungai tanpa adanya treatment lebih lanjut sehingga membahayakan ekosistem disekitarnya. Limbah cair industri tepung aren mengandung karbon dan nitrogen sebagai makronutrien dan ion logam sebagai mikronutrien pertumbuhan bakteri. Karena kandungannya tersebut, limbah cair aren dapat dimanfaatkan sebagai media pertumbuhan bakteri. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mendapatkan kondisi operasi yang menghasilkan penurunan COD dan BOD tertinggi dalam proses pemanfaatan limbah cair tepung aren menjadi BC dan mendapatkan BC dengan kuantitas terbaik. Metode yang digunakan yaitu metode fermentasi batch dengan variable yang divariasikan yaitu sukrosa dengan variasi (0, 25, 50, 75, dan 100 gram) serta pH media (3,4,5 dan 6). Adapun tahapan proses pada penelitian ini awali dengan pembuatan *starter Acetobacter xylinum*, fermentasi limbah cair aren, pemanenan dan pencucian *cellulose* bakteri, produk *bacterial cellulose* (*Nata de arenga*) dan uji produk. Adapun uji produk yang akan dilakukan yaitu ketebalan dan pH medium selama proses fermentasi serta dilakukan pengujian untuk nilai COD, BOD, dan FTIR pada BC. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa diperoleh kondisi optimum BC pada pH medium 4, penambahan sukrosa 100 gram, ketebalan BC 1,5125 cm dan waktu kultur 15 hari. Selanjutnya penurunan kadar pencemar tertinggi berupa COD dan BOD didapatkan pada pH medium 5 dan penambahan sukrosa 100 gram. Analisis FT-IR menunjukkan BC memiliki empat puncak utama dengan range bilangan gelombang 1.030; 1.321; 2.022-2.164, dan 3.337 cm⁻¹.

Kata Kunci : fermentasi, kadar pencemar, limbah cair aren

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanahu wa ta'ala atas berkat dan rahmat-Nyalah sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal penelitian yang berjudul “Pengolahn Limbah Cair Industri Tepung Aren Menjadi *Bacterial Cellulose* (BC) : Tinjauan Terhadap Kadar Pencemar” tepat pada waktunya. Penulisan proposal penelitian ini dilakukan untuk memenuhi persyaratan tugas akhir program sarjana Fakultas Universitas Sultan Ageng. Pada kesempatan ini, penulis hendak menyampaikan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan moril maupun materiil sehingga proposal penelitian ini dapat selesai. Ucapan terima kasih ini penulis tujukan kepada:

1. Kedua Orang Tua tercinta yang telah memberikan segala kasih sayang yang tidak pernah surut memberikan dukungan baik moril maupun materiil serta do'a kepada penulis.
2. Ibu Prof. Dr. Rahmayetty, S.T., M.T. selaku dosen pembimbing I penelitian sekaligus koordinator penelitian yang telah meluangkan waktu nya serta memberikan bimbingan dalam menyusun Proposal Penelitian.
3. Ibu Wardalia, S.T., M.T. dan Ibu Dhena Ria Barleany, S.T, M.Eng. selaku dosen pengampu matakuliah metode penelitian.
4. Rekan-rekan kami yang telah memberikan pertolongan baik bantuan langsung maupun tidak langsung

Meskipun telah berusaha menyelesaikan proposal penelitian ini sebaik mungkin, penulis menyadari bahwa proposal penelitian ini masih ada kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari para pembaca guna menyempurnakan segala kekurangan dalam penyusunan proposal penelitian ini.

Cilegon, Desember 2023

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
ABSTRAK	iii
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Ruang Lingkup Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Limbah Cair Tepung Aren	5
2.2 Parameter Kualitas Limbah Cair	6
2.3 Fermentasi Batch dan Fed-Batch	7
2.4 <i>Bacterial cellulose</i>	8
2.5 Faktor - Faktor yang Mempengaruhi Proses Fermentasi	11
2.6 Karakterisasi BC	12
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Tahapan Penelitian	15
3.2 Prosedur Penelitian.....	16
3.3 Alat dan Bahan Penelitian	16
3.4 Variabel Penelitian	17
3.5 Metode Pengumpulan dan Analisis Data	17
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Pengaruh Berat Sukrosa dan pH Awal Medium terhadap Ketebalan BC	20
4.2 Pengaruh Berat Sukrosa dan pH awal medium terhadap perubahan pH selama Fermentasi.....	22
4.3 Pengaruh Berat Sukrosa dan pH awal terhadap Nilai COD dan BOD Medium Fermentasi	25
4.4 <i>Uji Fourier Transform Infrared (FTIR) BC</i>	26

BAB V PENUTUP	28
5.1 Kesimpulan	28
5.2 Saran	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	
A. Dokumen Kegiatan	

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Baku Mutu Limbah Cair Aren	5
Tabel 2.2 Perbandingan antara <i>BC</i> dan <i>PC</i>	9
Tabel 4.1 Data Ketebalan BC.....	20
Tabel 4.2 Data pH selama Proses Fermentasi	23
Tabel 4.3 Perbandingan Analisis spektrum FTIR	28

DAFTAR GAMBAR

Gambar 3.1 Diagram Alir Tahapan Proses Penelitian	15
Gambar 4.1 Grafik pengaruh berat sukrosa dan pH awal medium terhadap ketebalan BC.....	21
Gambar 4.2 Grafik pengaruh berat sukrosa dan pH awal medium terhadap pH selama proses fermentasi	24
Gambar 4.3 Grafik pengaruh berat sukrosa dan pH awal medium fermentasi terhadap efisiensi penyisihan COD dan BOD medium fermentasi.	25
Gambar 4.4 Grafik analisa <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR) BC.....	27
Gambar 4.5 Grafik analisa <i>Fourier transform Infrared</i> (FTIR) biofilm BC	28

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kabupaten Lebak, yang berada di Provinsi Banten merupakan penghasil gula aren terbesar di Indonesia. Pada tahun 2015 Kabupaten Lebak tercatat dapat memproduksi gula aren sebesar 8.722.500 kg (Suara.com, 2016). Dalam proses pengolahan batang aren menjadi tepung aren akan dihasilkan limbah cair. Saat ini, limbah cair tepung aren telah mencemari beberapa sungai diantaranya sungai Cipager di Desa Lebak Peundeuy, Kecamatan Cihara, Kabupaten Lebak-Banten (Bantennews,2018). Di dalam limbah cair aren terkandung banyak senyawa kimia seperti karbon dan nitrogen. Rasio antara keduanya yaitu C/N sebesar 15:1 (Ramdiana,2017). Selain itu, didalam limbah cair aren banyak terkandung kadar pencemar, yakni BOD sebesar 3,050 mg/L, COD sebesar 6,394 mg/L, amoniak sebesar 7,2 mg/L (Rahmayetty & Fatah, 2023), ion logam berupa Mn, Zn, and Cu masing-masing sebesar 0.11, 0.305, and 0.121 mg/L (Firdayati & Handajani, 2005). Kandungan karbon dan nitrogen dalam limbah tepung aren merupakan makronutrien dan ion logam merupakan mikronutrien pertumbuhan bakteri (Shuler & Kargi, 1991). Menurut Pambayun (2002), bakteri *Acetobacter xylinum* dapat membentuk *nata* jika ditumbuhkan dalam media yang sudah mengandung karbon (C) dan nitrogen (N) melalui proses yang terkontrol. Maka dari itu limbah cair aren dapat dijadikan medium yang potensial untuk tumbuhnya *bacterial cellulose*.

Bacterial cellulose (BC) adalah *cellulose* yang dihasilkan oleh sejumlah bakteri pada substrat cair yang mengandung gula. Rumus molekul BC adalah $(C_6H_{10}O_5)_n$ yang memiliki ikatan α -1,4 antara dua molekul sakarida yang menyusun polimer tersebut, mirip dengan molekul *cellulose* tanaman, tetapi memiliki sifat fisiko-kimia yang berbeda (Yoshinaga dkk., 1997). BC sangat banyak digunakan, salah satunya yaitu pada bidang farmasi, BC dimanfaatkan

sebagai pembalut luka, rekayasa jaringan, pembawa obat, penstabil emulsi, dan masker wajah. Selain itu BC juga banyak digunakan pada sektor seperti Industri tekstil untuk bahan kulit buatan dan tekstil, pada sektor kosmetik untuk penstabil dan pengemulsi pada krim, serta pelembab kuku. Pada sektor kehutanan digunakan untuk multilapis untuk *plywood* dan pada sektor industri kertas digunakan untuk pembuatan kertas. Sejumlah spesies bakteri dari golongan *Aerobacter*, *Acetobacter*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Sarcina*, *Salmonella*, dan *Eschericia coli* dilaporkan memiliki kemampuan mensintesis lembaran *cellulose* ekstraseluler (Bae dan Shoda, 2004). Berdasarkan perbedaan strain bakteri, didapatkan bahwa *Acetobacter xylinum* menghasilkan yield BC yang lebih tinggi dibandingkan dengan jenis bakteri yang lain (Chawla et al., 2009).

Pemanfaatan limbah cair menjadi BC telah banyak dilakukan oleh peneliti sebelumnya diantaranya adalah Limbah Cair *Virgin Coconut Oil* (VCO) menggunakan *Acetobacter xylinum* (Luki Erse, 2008), limbah cair sagu menggunakan bakteri *Beijerinckia fluminensis* (Voon et al., 2019), limbah cair tahu menggunakan *Acetobacter xylinum* (Aini dan Nur, 2019), limbah cair tepung singkong menggunakan *Acetobacter xylinum* (Putriana dan Aminah, 2013), dan limbah cair industri tepung aren menggunakan *Acetobacter xylinum* (Rahmayetty dkk, 2021).

Pemanfaatan limbah cair industri tepung aren menjadi BC sangat berpotensi untuk dikembangkan karena mengandung mikronutrien dan makronutrien untuk pertumbuhan bakteri. Penelitian yang telah dilakukan Rahmayetty & Fatah (2023) dalam pemanfaatan limbah cair industri tepung aren sebagai media bakteri selulosa (BC) dan produksi selulosa asetat (CA) telah meninjau kondisi optimum pembentukan BC dengan penambahan sukrosa dan pengaruh medium awal serta dalam penelitian tersebut belum dilakukan peninjauan terhadap pengurangan komponen pencemar yang terkandung didalam limbah tersebut setelah dilakukan sintesis BC. Data ini sangat diperlukan untuk memberikan informasi terkait pemanfaatan limbah menjadi biomaterial (BC) dalam upaya untuk mengurangi pencemaran lingkungan yang disebabkan oleh limbah cair

industri tepung aren. Berdasarkan hal tersebut maka penelitian pemanfaatan limbah cair tepung aren menjadi *bacterial cellulose* (BC) dengan peninjauan penurunan berat pencemar berupa *chemical oxygen demand* (COD) dan *biological oxygen demand* (BOD) perlu dilakukan untuk mengetahui efisiensi penurunan bahan pencemaran setelah dilakukan sintesis BC.

1.2 Rumusan Masalah

Limbah cair industri tepung aren mengandung bahan organik yang tinggi sehingga bila dibuang ke badan air maka dapat menyebabkan pencemaran. Pemanfaatan limbah cair industri tepung aren menjadi BC merupakan suatu upaya untuk mengurangi pencemaran lingkungan dan menghasilkan biomaterial yang ramah lingkungan. Penelitian terdahulu yang telah dilakukan belum meninjau penurunan kadar pencemar diantaranya COD dan BOD dalam limbah cair industri tepung aren setelah dilakukan proses pemanfaatannya menjadi BC. Penelitian ini dilakukan untuk mencari pengaruh fermentasi medium dalam penurunan kadar COD dan BOD.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini sebagai berikut.

- 1.2.1 Mendapatkan kondisi operasi yang menghasilkan penurunan COD dan BOD tertinggi dalam proses pemanfaatan limbah cair tepung aren menjadi BC
- 1.2.2 Mendapatkan BC dengan kuantitas terbaik dalam pemanfaatan limbah cair industri tepung aren

1.3 Ruang Lingkup Penelitian

Limbah cair industri tepung aren yang digunakan berasal dari salah satu industri tepung aren yang ada di daerah Lebak, Banten. Pemanfaatan limbah cair industri tepung aren menjadi BC dilakukan dengan fermentasi batch menggunakan *Acetobacter xylinum*. Parameter yang akan dianalisa dalam

penelitian ini adalah berat sukrosa, pH awal medium, pH medium selama proses fermentasi, ketebalan BC, serta efisiensi penurunan COD dan BOD pada awal dan akhir proses fermentasi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Limbah Cair Tepung Aren

Dalam proses produksi pembuatan tepung aren, salah satu hasil limbahnya adalah limbah cair. Limbah cair berasal dari proses pencucian, pembilasan, dan pengendapan air dimana air limbah masuk ke dalam selokan dan teralirkan menuju sungai yang menyebabkan pencemaran serta mengganggu keberlangsungan hidup manusia, akuatik, kualitas dari air, tanah, serta tumbuhan (Mahida,1994). Adapun kandungan limbah cair tepung aren yaitu unsur hara makro seperti nitrogen, fosfor, dan kalium. Selain itu mengandung unsur hara mikro seperti khlor, besi, mangan, tembaga, seng, dan barium. Serta unsur hara sekunder seperti kalium, magnesium, dan belerang (Rahmat,1994). Dibawah ini merupakan baku mutu limbah cair aren :

Tabel 2.1 Baku Mutu Limbah Cair Aren

No	Parameter	Satuan	Golongan Baku Mutu Air Limbah	
			I	II
FISIKA				
1	Temperatur	°C	38	38
2	TDS	mg/l	2000	4000
3	TSS	mg/l	100	200
KIMIA				
1	pH		6,0- 9,0	
2	Besi terlarut (Fe)	mg/l	5	10
3	Mangan terlarut (Mn)	mg/l	2	5
4	Barium (Ba)	mg/l	2	3
5	Tembaga (Cu)	mg/l	2	3
6	Seng (Zn)	mg/l	5	10
7	Khrom heksavalen (Cr ⁶⁺)	mg/l	0,1	0,5
8	Khrom total (Cr)	mg/l	0,5	1
9	Kadmium (Cd)	mg/l	0,05	0,10
10	Raksa (Hg)	mg/l	0,002	0,005
11	Timbal (Pb)	mg/l	0,1	1
12	Timah (Sn)	mg/l	2	3
13	Arsen (As)	mg/l	0,1	0,5
14	Selenium (Se)	mg/l	0,05	0,5
15	Nikel (Ni)	mg/l	0,2	0,5
16	Kobalt (Co)	mg/l	0,4	0,6
17	Sianida (CN)	mg/l	0,05	0,5
18	Sulfida (H ₂ S)	mg/l	0,05	0,1
19	Flourida (F)	mg/l	2	3
20	Klorin bebeas (Cl ₂)	mg/l	1	2
21	Nitrat (NO ₃ -N)	mg/l	20	30
22	Nitrit (NO ₂ -N)	mg/l	1	3
23	BOD ₅	mg/l	50	100
24	COD	mg/l	100	250
25	MBAS	mg/l	5	10
26	Fenol	mg/l	0,5	1
27	Minyak nabati	mg/l	5	10
28	Minyak mineral	mg/l	10	59
29	Radioaktif	-	-	-

2.2 Parameter Kualitas Limbah Cair

Dibawah ini merupakan penjelasan mengenai parameter yang digunakan dalam pengujian kualitas dari limbah cair :

a) pH

Potential Hydrogen (pH) adalah indeks konsentrasi ion hidrogen $[H^+]$ dalam air. $[H^+]$ mempengaruhi sebagian besar proses kimia dan biologi. Dengan demikian, pH merupakan variabel penting dalam upaya kualitas air. Parameter pH digunakan untuk menyatakan tingkat keasaman atau kebasaan yang dimiliki oleh suatu zat, larutan atau benda (Boyd, dkk, 2011). Nilai pH merupakan karakteristik penting dari air limbah karena mempengaruhi reaksi-reaksi. Besar dan kecilnya nilai pH suatu limbah dipengaruhi oleh bahan-bahan kimia yang terkandung. Karena itu pH air limbah akan berbeda-beda sesuai kandungan senyawa kimianya. Pengolahan air limbah baik secara biologis maupun kimiawi, dapat berjalan dengan baik jika dilakukan pada pH yang tepat. Air murni bersifat netral, dengan pH-nya pada suhu 25 °C ditetapkan sebagai 7,0. Larutan dengan pH kurang daripada tujuh disebut bersifat asam, dan larutan dengan pH lebih daripada tujuh dikatakan bersifat basa atau alkali. Pengukuran pH sangatlah penting dalam bidang yang terkait dengan kehidupan atau industri pengolahan kimia (Zulius, 2017).

Berdasarkan standar baku mutu air PP No.82 Tahun 2001 (kelas II), pH yang baik untuk kegiatan budidaya ikan air tawar berkisar antara 6 – 9. pH yang ideal bagi kehidupan biota air tawar adalah antara 6,8 - 8,5. pH yang sangat rendah, menyebabkan kelarutan logam-logam dalam air makin besar, yang bersifat toksik bagi organisme air, sebaliknya pH yang tinggi dapat meningkatkan konsentrasi amoniak dalam air yang juga bersifat toksik bagi organisme air (Tatangindatu, dkk, 2012).

b) *Chemical Oxygen Demand (COD)*

Chemical Oxygen Demand (COD) dengan nama lain kebutuhan oksigen kimiawi (KOK) adalah jumlah oksigen yang dinyatakan dalam satuan ppm atau mg/L yang dibutuhkan dalam kondisi khusus untuk menguraikan benda organik secara kimiawi. Pengujian COD digunakan untuk mengukur padatan oksigen dari bahan organik dalam air limbah yang dapat dioksidasi secara kimiawi dengan penggunaan dikromat pada larutan asam. Peningkatan COD akan mengakibatkan berkurangnya oksigen terlarut di dalam air (Sami, 2012).

c) *Biological Oxygen Demand (BOD)*

Biological Oxygen Demand (BOD) yaitu suatu karakteristik yang menunjukkan jumlah oksigen terlarut yang diperlukan oleh mikroorganisme (biasanya bakteri) untuk mengurai atau mendekomposisi bahan organik dalam kondisi aerobik (Umaly dan Cuvin, 1988; Metcalf & Eddy, 1991) Ditegaskan lagi oleh Boyd (1990), bahwa bahan organik yang terdekomposisi dalam BOD adalah bahan organik yang siap terdekomposisi (*readily decomposable organic matter*). Mays (1996) mengartikan BOD sebagai suatu ukuran jumlah oksigen yang digunakan oleh populasi mikroba yang terkandung dalam perairan sebagai respon terhadap masuknya bahan organik yang dapat diurai. Dalam pengujiannya BOD diukur dalam sample air pada suhu 20 °C dan diinkubasi selama 5 hari dimana hal ini dikenal sebagai BOD₅.

2.3 Fermentasi Batch dan Fed-Batch

Batch Process merupakan proses fermentasi yaitu dengan memasukan media dan inoculum secara bersamaan dan terjadinya perubahan kondisi dalam bioreactor dimana nutrient, produk, serta limbah akan berkurang. Untuk produk dari hasil *batch process* diambil saat akhir fermentasi. Dalam kondisi ini juga terjadi (Iman, 2008). Dalam fermentasi batch banyak diaplikasikan di dalam industri karena memudahkan proses sterilisasi dan pengontrolan alat. Selain itu, cara batch menurut penelitian yang dilakukan (Hana Silviana, 2010) menyatakan bahwa

aplikasi industri yang menggunakan cara batch yaitu industri etanol yang menghasilkan kadar etanol menjadi tinggi.

Metode fed-batch merupakan metode dimana menambahkan media baru ke kultur tertutup secara konstan tanpa mengeluarkan cairan kultur dalam fermentasi saat volume kultur meningkat (Tri Widjaja, 2010). Menurut (Rusmana, 2008) metode fed-batch yaitu memasukkan beberapa sumber nutrisi (sumber C, N, dan lain – lain) dalam bioreaktor pada volume tertentu sehingga menghasilkan produk mendekati maksimal tetapi dibuat konstan konsentras dari sumber nutrisinya. Pada metode fermentasi fed-batch proses menurut (Bambang, 2010), yaitu pembangunan dari sistem batch dimana bertambahnya media baru, dan tidak adanya kultur yang keluar serta yield lebih tinggi dibandingkan system batch. Keuntungan dari system fed-batch yaitu konsentrasi dimana berasal dari sisa substrat yang terbatas, dan mempertahankan tingkat rendah sehingga mencegah terjadinya fenomena represi katabolit atau inhibisi substrat.

Menurut (Rachman, 1989) sistem fed-batch adalah suatu sistem yang menambahkan media baru secara teratur pada kultur tertutup, tanpa mengeluarkan cairan kultur yang ada di dalam fermentor sehingga volume kultur makin lama makin bertambah. Apabila pada fermentasi kontinu dihasilkan keluaran secara terus-menerus maka pada fed-batch diperoleh keluaran tunggal pada akhir inkubasi sehingga dapat ditangani dengan cara yang sama seperti pada proses batch (Sinclair & Kristiansen, 1987).

2.4 Bacterial Cellulose

Cellulose merupakan salah satu komponen utama dinding sel pada tanaman yang dapat disintesis oleh organisme lain seperti fungi, bakteri, dan alga. *Bacterial cellulose* merupakan biopolimer yang diproduksi oleh beberapa bakteri dan memiliki rumus molekul sama dengan *cellulose* tanaman $(C_6H_{10}O_5)_n$ dengan sifat fisik dan kimia yang berbeda. *Cellulose* diproduksi oleh beberapa kelompok bakteri asam asetat dalam medium sintetik maupun non sintetik melalui proses fermentasi.

Kelompok bakteri tersebut yaitu genus *Acetobacter* atau *Glucanacetobacter xylinum*. Selain itu dapat diproduksi dengan mikroorganisme seperti spesies *Agrobacterium tumefaciens*, *Gluconacetobacter sp.*, *Rhizobium spp.*, dan *Sarcina ventriculli* (Moniri et al., 2017). Adapun aplikasi industri dari *bacterial cellulose* yaitu industri biomedis, produksi kertas, industri makanan, dan kosmetik. Adapun dibawah ini merupakan perbedaan antara *bacterial cellulose (BC)* dengan *plant cellulose (PC)* sebagai berikut: (Amorim, dkk. 2020)

Tabel 2.2 Perbandingan antara *BC* dan *PC*

Properties	Plant nanocellulose		Bacterial cellulose	References
	Cellulose nanocrystals	Cellulose nanofibers		
Crystallinity degree	54–88%	59–64%	65–79%	Mishra et al. (2018)
Degree of polymerization	500–15,000	≥ 500	800–10,000	Klemm et al. (2005)
Length of fibers	150–300 nm	85–225 nm	70–80 nm	
Young's module	50–100 GPa	39–78 GPa	15–30 GPa	
Density	1.6 g cm ⁻³	1.566 g cm ⁻³	1.5 g cm ⁻³	Vieira (2015)
Purity	Low	Low	High	Pecoraro et al. (2008)
<i>Particle size</i>				
Length	0.05–0.5 μm	0.5–2 μm	>1 μm	Moon et al. (2011)
Width	3–10 nm	4–20 nm	30–50 nm	
Height	3–10 nm	4–20 nm	6–10 nm	

Acetobacter xylinum merupakan salah satu bakteri gram-negatif. Dalam system produktif *cellulose* yaitu dimana sel tunggal yang dapat mengkonversi hingga 10⁸ dari molekul glukosa per jam menjadi *cellulose*, memiliki ukuran 0,6–0,8 μm dan terdapat pada tunggal, ganda, atau strain. Bakteri ini bakteri aerobic obligat dengan kebutuhan oksigen yang digunakan untuk membentuk membran selulosa dan untuk hidup (Ross, dkk. 1991). Adapun factor yang mempengaruhi pertumbuhan *Acetobacter xylinum* yaitu sumber karbon, nitrogen, dan tahap keasaman media suhu, serta udara (senyawa karbon untuk proses fermentasi *bacterial cellulose*) dimana *bacterial cellulose* berasal dari monosakarida dan disakarida. Sumber karbon berasal dari gula dimana yang sering digunakan sedangkan sumber nitrogen berasal dari ZA, urea. Bakteri *Acetobacter xylinum* tumbuh dengan pH 3,5 – 7,5 tetapi tumbuh optimal jika dengan pH 4,3. Untuk suhu ideal tumbuhnya bakteri *Acetobacter xylinum* yaitu 28 - 31°C dimana bakteri perlu oksigen sehingga tidak perlu ditutup tetapi ditutup hanya untuk mencegah

terjadinya kontaminasi dengan kotoran yang masuk saat proses fermentasi (Riswanda, 2009).

Bakteri *Acetobacter xylinum* memiliki klasifikasi yaitu seperti nama kerajaan: *Bacteria*, Filum : *Proteobacteria*, Ordo : *Rhodospirillales*, Kelas : *Alphaproteobacteria*, Famili : *Acetobacteraceae*, Genus: *Acetobacter*, Spesies: *Acetobacter xylinum*. Bakteri ini mengalami fase pertumbuhan sel, yaitu fase adaptasi, fase pertumbuhan awal, fase pertumbuhan eksponensial, fase pertumbuhan lambat, fase pertumbuhan tetap, fase menuju kematian, dan fase kematian (Riswanda, 2009). Pertumbuhan sel merupakan pertumbuhan semua komponen dalam sel hidup secara teratur. Menurut Djimiarti (1993), pembuatan *bacterial cellulose* bergantung terhadap aktivitasnya. Dimana bakteri *Acetobacter xylinum* termasuk bakteri asam asetat dengan pH rendah. Menurut Astuti dan Prabasari (2004), awal fermentasi setelah kultur *Acetobacter xylinum* ditempatkan dalam media fermentasi, lalu bakteri akan tumbuh dengan baik serta membelah diri dengan cepat secara eksponensial hingga jumlah maksimum dibantu dengan keadaan lingkungan dari medium sehingga mampu mensintesis seperti *cellulose*. *cellulose* terbentuk oleh *Acetobacter xylinum*. *cellulose* dibentuk oleh *Acetobacter xylinum* sebagai produk yang berasal dari metabolisme.

Pada proses sintesis BC diawali oleh pemecahan sukrosa oleh enzim sukrase. Sukrosa akan dipecah menjadi glukosa dan fruktosa. Glukosa inilah yang akan digunakan sebagai bahan baku dalam sintesis selulosa. Proses fermentasi sukrosa melibatkan mikroorganisme yang dapat memperoleh energi dari substrat sukrosa dengan melepaskan karbondioksida dan produk samping berupa senyawa alkohol. Sintesis selulosa oleh *A. xylinum* dilakukan melalui serangkaian proses perubahan yang menggunakan glukosa sebagai substratnya. Menurut Seumahu (2005) awalnya glukosa akan diubah menjadi glukosa-6-fosfat oleh glukosa kinase. Glukosa-6-fosfat selanjutnya diisomerisasi oleh fosfoglukomutase menjadi glukosa-1-fosfat yang kemudian dikonversi menjadi uridine 5'-difosfat glukosa (UDPG) oleh UDPG pirofosforilase. Akhirnya UDPG dipolimerasi menjadi selulosa oleh selulosa sintase (Febrianti N., 2017).

2.5 Faktor - Faktor yang Mempengaruhi Proses Fermentasi

Istilah fermentasi kerap digunakan untuk menjelaskan semua jenis aktivitas mikroba, meskipun sebenarnya makna fermentasi lebih spesifik. Dalam mikrobiologi, fermentasi hanya merujuk pada aktivitas spesifik dari mikroorganisme saja. Oleh karena itu, proses fermentasi memiliki keterkaitan yang sangat erat dengan aktivitas mikroorganisme. Berikut beberapa faktor-faktor yang mempengaruhi proses fermentasi.

1. Derajat Keasaman (pH)

Kondisi pH media sangat mempengaruhi pada jenis mikroba yang tumbuh. pH optimum untuk proses fermentasi antara 4,5-5 sedangkan pada pH 3 proses fermentasi akan berkurang kecepatannya. Hal ini disebabkan karena pH mempengaruhi efektivitas enzim yang dihasilkan mikroorganisme dalam membentuk kompleks substrat. Selain itu, perubahan pH dapat menyebabkan terjadinya proses deaktivasi sehingga menurunkan aktivitas enzim (Poedjiadi & titin, 2006). Pada penelitian yang dilakukan oleh Rahmayetty & Fatah (2023), variasi pH yang digunakan yaitu pada rentang 3,5 - 6,5.

2. Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor yang berpengaruh terhadap laju pertumbuhan dan aktivitas mikroorganisme dalam proses fermentasi. Setiap mikroorganisme memiliki daya tahan yang berbeda - beda terhadap suhu. Masing - masing memiliki suhu optimum, minimum, dan maksimum untuk pertumbuhannya. (Jay et al., 2005). Hal ini disebabkan karena jika di bawah suhu minimum aktivitas enzim akan terhenti, sedangkan di atas suhu maksimum maka pertumbuhan mikroorganisme tidak terjadi lagi atau terjadi denaturasi enzim (Ferdaus et al, 2008).

3. Substrat

Substrat merupakan faktor penting yang mempengaruhi proses fermentasi. Substrat berfungsi sebagai sumber kehidupannya yaitu sumber karbon dan sumber energi bagi pertumbuhan dan metabolisme mikroorganisme fermentasi (Battcock & Azam, 1998). Pada proses fermentasi, fermen atau enzim dapat mengubah substrat menjadi bahan lain dengan mendapat keuntungan berupa energi (Waluyo, 2005).

4. Kandungan Oksigen

Tersedianya oksigen dapat mempengaruhi jenis mikroorganisme yang dapat tumbuh. Setiap mikroorganisme membutuhkan oksigen yang berbeda jumlahnya untuk pertumbuhan atau membentuk sel - sel baru untuk fermentasi. Mikroorganisme dibedakan menjadi 3 kelompok yaitu aerob (membutuhkan oksigen), anaerob (tidak membutuhkan oksigen), dan anaerob fakultatif (dapat hidup pada keadaan ada atau tidak adanya oksigen).

2.6 Karakterisasi BC

Karakterisasi BC dilakukan untuk mengetahui sifat fisika dan kimiawi dari BC yang dihasilkan oleh suatu mikroba. Karakterisasi juga berfungsi berguna untuk mengevaluasi efisiensi produksi serta menentukan potensi aplikasi dari BC tersebut. Berikut beberapa analisis yang biasa dilakukan dalam karakterisasi BC antara lain (Shah et al.,2013) :

a) *Fourier Transform Infra Red (FTIR)*

Fourier Transform Infra Red (FTIR) merupakan teknik spektroskopi inframerah yang digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsional atau senyawa dalam suatu sampel karena spektrumnya yang sangat kompleks yang terdiri dari banyak puncak - puncak serta masing-masing kelompok fungsional menyerap sinar inframerah pada frekuensi yang unik (Chusnul, 2011). FTIR memiliki daerah inframerah pada spektrum

gelombang elektromagnetik dengan panjang gelombang 14000 cm^{-1} hingga 10^{-1} atau berkisar antara $2,50 - 50\ \mu\text{m}$. Prinsip kerja FTIR yaitu sinar inframerah melewati sampel lalu sebagian diserap dan sebagian lagi dilewatkan. Pola serapan inframerah ini kemudian dianalisis untuk mengidentifikasi gugus fungsional sampel (Hanlon et al., 2000). Berikut dibawah ini tahapan pengujian FTIR :

- Nyalakan FTIR dengan menekan tombol power pada posisi ON (lampu indikator akan menyala). Lalu nyalakan juga komputer dan printer
- Membuka *software* OMNIC pada layar komputer, dan tekan close pada program *Installation Wizard*.
- Tekan *Collect Background* disamping kurva dan tekan “YES” pada jendela confirmation untuk menampilkan hasil pembacaan *Background*
- Pasang sampel pada lempengan dan letakkan magnet di atasnya. Prosedur preparasi sampel : Jika sampel berbentuk padat (serbuk) maka dihomogenkan bersama dengan KBr dengan perbandingan sekitar 1 : 200 (sampel:KBr). Kemudian dimasukkan dalam alat cetak pelet dan dipress dengan tekanan sekitar 7 ton.
- Jika sampel berbentuk cair maka diteteskan pada pelet KBr dengan cara pembuatan pelet KBr dengan alat cetak pelet dan dipress dengan tekanan sekitar 7 ton.
- Lalu, masukkan lempengan sampel dalam wadah sampel. Tekan jendela *Collect Sample* disamping kurva dan isi ID sampel, tekan OK.
- Tekan OK pada menu confirmation untuk memulai proses pembacaan sampel. Setelah selesai, tekan OK sehingga hasil pembacaan tampil pada layar.
- Untuk mengubah sensitifitas hasil pembacaan ubah skala Sensitivity disamping kurva pada jendela *Find Peaks* (Sensitifitas yang biasa

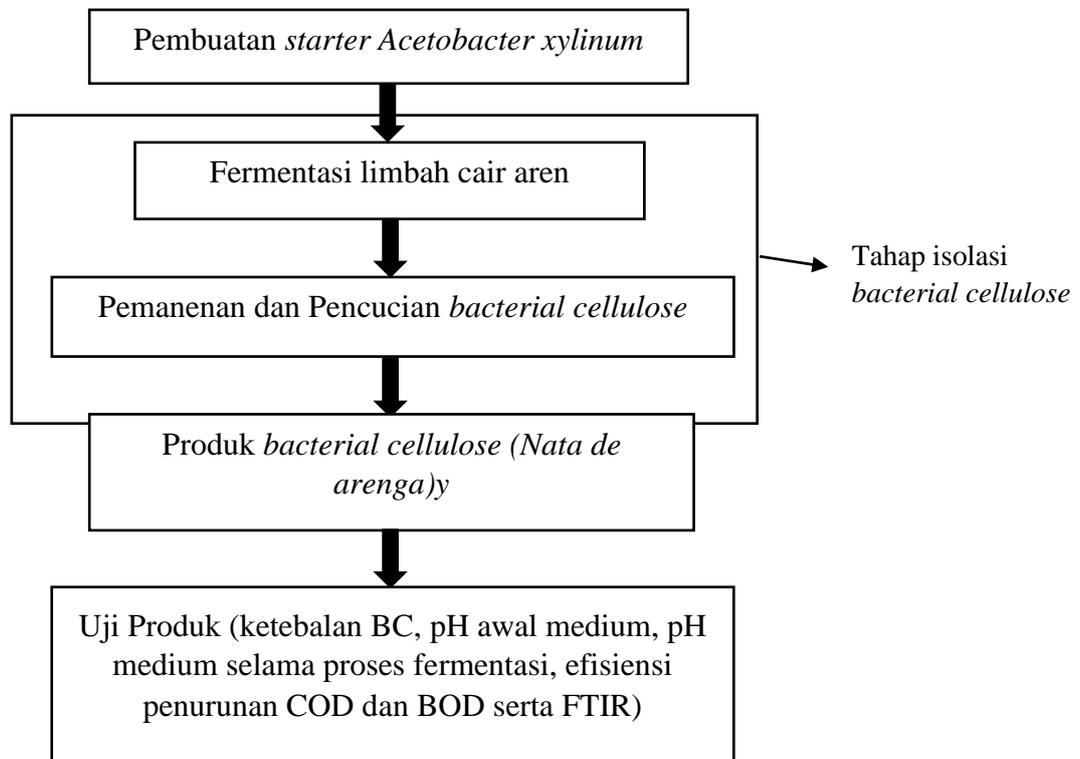
digunakan 50). Dan jika ingin menghaluskan garis kurva tekan jendela *process*, pilih *smooth* dan klik skala yang diinginkan.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biomaterial Terapan dan Rekayasa Produk, *Center of Excellent (COE)* Fakultas Teknik Universitas Sultan Ageng Tirtayasa. Adapun metode yang digunakan adalah fermentasi secara batch. Penelitian pembuatan *bacterial cellulose* dari limbah cair industri tepung aren atau disebut dengan *nata de arenga* dilakukan melalui beberapa tahapan proses, yaitu pembuatan starter *Acetobacter xylinum*, isolasi *bacterial cellulose* dari limbah cair industri tepung aren yang meliputi fermentasi, pemanenan, pencucian dan tahap uji kualitas dan kuantitas *bacterial cellulose* yang dihasilkan. Uji produk *cellulose (nata)* meliputi ketebalan, perolehan *cellulose* (yield), berat, pH dan menganalisa kadar pencemar yaitu BOD dan COD sebelum dan sesudah proses. Adapun tahapan penelitian keseluruhan dapat dilihat pada Gambar 3.1



Gambar 3.1 Diagram Alir Tahapan Proses Penelitian

3.2 Prosedur Penelitian

Limbah cair tepung aren diendapkan, kemudian disaring dengan kain kasa. Menyiapkan limbah cair industri tepung aren sebanyak 500 mL, lalu dipanaskan hingga mendidih (100°C). Saat dipanaskan, ditambahkan sukrosa dengan variasi 0, 25, 50, 75, dan 100 gram, ammonium sulfat (ZA-food grade) 1% b/v. Kemudian memasukkan campuran ke dalam fermentor dan menunggu campuran hingga suhu ruang. Selanjutnya memasukkan asam asetat glasial hingga pH media sesuai dengan variasi (3,4,5 dan 6). Kemudian, aduk larutan tersebut hingga semua campuran larut secara sempurna. Lalu inokulum *Acetobacter xylinum* ditambahkan dengan volume sebanyak 25% v/v pada media fermentasi. Fermentasi dilakukan selama 14 hari di dalam fermentor yang ditutup rapat menggunakan kertas koran yang sudah disterilkan. Lapisan *cellulose* yang terbentuk dipisahkan dan direndam dengan NaOH 2% (b/v) pada suhu 80°C selama 1 jam. Selanjutnya, dicuci dengan air destilat secara berulang-ulang sampai pH netral (pH air distilat). *Cellulose* yang terbentuk diukur ketebalan dan pH. Kemudian limbah aren sebelum dan setelah proses fermentasi di uji COD dan BOD serta dilakukan uji FTIR.

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Fermentor (botol kaca ukuran 1000 ml)
- b. Kain kasa
- c. PH meter
- d. Limbah cair aren dari industri tepung aren, di daerah Lebak, Banten.
- e. *Acetobacter xylinum*
- f. Asam asetat glasial
- g. Amonium sulfat
- h. NaOH

- i. Panci
- j. Neraca digital
- k. Aquadest

3.4 Variabel Penelitian

Adapun variabel bebas pada penelitian ini adalah berat sukrosa dan pH. Variabel terikat pada penelitian ini adalah yield dan kualitas dari *bacterial cellulose (nata)*. Variable kontrol pada penelitian ini adalah limbah cair tepung aren.

3.5 Metode Pengumpulan dan Analisis Data

Pengumpulan data dilakukan dengan menganalisa sampel berupa produk *cellulose*. Analisa yang dilakukan pada penelitian ini adalah uji ketebalan *cellulose*, uji COD, uji BOD dan uji FTIR.

- a. Uji ketebalan *nata* menggunakan penggaris
- b. Uji BOD

Adapun tahapan pengujian BOD :

- Menyiapkan 2 botol DO lalu ditandai masing masing A1 dan A2.
- Memasukkan larutan contoh uji kedalam masing masing botol winkler hingga meluap, kemudian tutup masing – masing botol secara hati – hati untuk menghindari terbentuknya gelembung udara
- Lakukan pengocokan beberapa kali, kemudian menambahkan aquades pada sekitar mulut botol winkler yang telah ditutup.
- Simpan botol A2 dalam lemari incubator $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ selama 5 hari.
- Botol A1 ditambahkan larutan MnSO_4 , ditambahkan larutan alkali iodida azida dan menambahkan H_2SO_4 , serta ditambahkan 1-2 tetes indikator amilum
- Lakukan pengukuran oksigen terlarut terhadap larutan dalam botol A1 dengan alat DO meter yang terkalibrasi atau dengan metoda titrasi secara iodometri (modifikasi Azida). Hasil pengukuran,

merupakan nilai oksigen terlarut nol hari (A_1). Pengukuran oksigen terlarut pada nol hari harus dilakukan paling lama 30 menit setelah pengenceran

- Ulangi tahap ke 5 dan 6 untuk botol A2 yang telah diinkubasi 5 hari \pm 6 jam. Hasil pengukuran yang diperoleh merupakan nilai oksigen terlarut 5 hari (A_2).
- Penetapan blanko dengan menggunakan larutan pengencer tanpa contoh uji. Hasil pengukuran yang diperoleh merupakan nilai oksigen terlarut nol hari (B_1) dan nilai oksigen terlarut 5 hari (B_2)
- Penetapan control standar dengan menggunakan larutan glukosa-asam glutamat. Hasil pengukuran yang diperoleh merupakan nilai oksigen terlarut nol hari (C_1) dan nilai oksigen terlarut 5 hari (C_2)

$$BOD_5 = \frac{(A_1 - A_2) - \left(\frac{B_1 - B_2}{V_B}\right)V_C}{P}$$

c. Uji COD

Adapun tahapan pengujian COD :

- Sampel uji dipipet 5 mL sampel (atau pengenceran dengan volume akhir 5 ml). Masukkan ke dalam tabung reaksi. Lakukan hal yang sama untuk aquadest yang akan menjadi blanko
- Menambahkan 3 mL larutan digest dan 7 mL larutan katalis. Tabung reaksi ditutup dan dikocok dengan perlahan sampai homogen.
- Memasukkan tabung reaksi tersebut ke dalam oven pada suhu 150 °C selama 2 jam, kemudian mendinginkannya sampai suhu ruang
- Menuangkan sampel ke dalam erlenmeyer untuk dititrasi
- Indikator ferroin ditambahkan 3 tetes ke dalam erlenmeyer dan dititrasi dengan larutan FAS 0,05 N sampai terjadi perubahan warna

dari hijau menjadi tepat merah.

- Dilakukan tahapan perjaan sampel terhadap aquadest sebagai blanko dan dicatat volume larutan FAS yang digunakan sebagai A.

$$COD_{\left(\frac{mg}{O_2}\right)} = \frac{(A - B) \times N_{FAS} \times 8000}{V_{sampel}}$$

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Berat Sukrosa dan pH Awal Medium terhadap Ketebalan BC

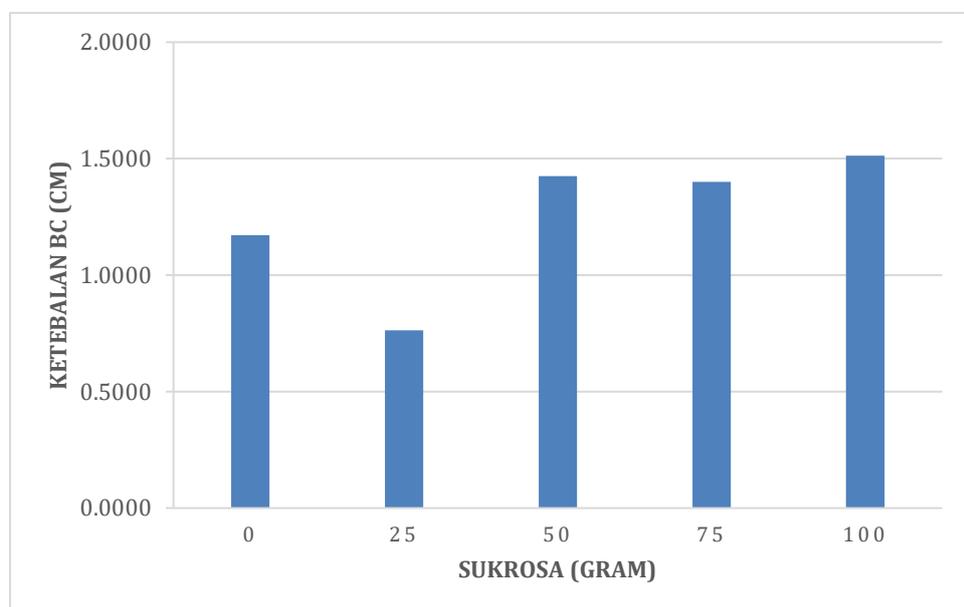
Makronutrien, mikronutrien dan pH merupakan faktor penting di dalam proses fermentasi. Dalam proses fermentasi, makronutrien seperti glukosa dan sukrosa merupakan sumber karbon dan nitrogen yang dibutuhkan oleh bakteri. *Acetobacter xylinum* (bakteri) memerlukan sumber karbon seperti sukrosa sebagai sumber energi bagi aktivitasnya dalam pembentukan BC (Hasbullah, 2009). Kemudian kondisi pH juga mempengaruhi pertumbuhan bakteri di dalam medium fermentasi. Pertumbuhan bakteri akan optimal jika kondisi pH di dalam medium fermentasi juga optimum. pH optimum untuk proses fermentasi antara 4,5-5 (Poedjiadi & titin, 2006). Pengaruh makronutrien seperti sukrosa dan pH terhadap aktivitas bakteri *Acetobacter xylinum* dalam proses fermentasi ditandai dengan ketebalan BC yang dihasilkan. Pengaruh berat sukrosa dan pH awal medium terhadap ketebalan BC dapat dilihat pada Tabel 4.1 berikut.

Tabel 4.1 Data Ketebalan BC

Berat Sukrosa (g)/500 mL	pH awal medium	Ketebalan BC (cm)		
		Hari ke-0	Hari ke-10	Hari ke-15
0	3	0	0,05	0,05
	4	0	0,8	1,1715
	5	0	0,675	0,825
	6	0	1	1,265
25	3	0	0,05	0,05
	4	0	0,065	0,7625
	5	0	0,85	1,0925
	6	0	0,05	0,05
50	3	0	0,975	1,5
	4	0	1,25	1,425
	5	0	0,065	0,8

	6	0	0,3	1,05
75	3	0	1,025	1,175
	4	0	1,25	1,4
	5	0	0,2025	0,9875
	6	0	0,757	1,075
100	3	0	0,05	0,05
	4	0	0,3875	1,5125
	5	0	0,425	1,045
	6	0	0,875	1,35

Tabel 4.1 diatas merupakan data ketebalan BC setelah dilakukan proses fermentasi selama 15 hari dengan variasi pH awal medium dan berat sukrosa. Data - data ketebalan BC diperoleh dengan mengukur ketebalan BC di setiap sisi fermentor yang kemudian dijumlahkan semua data dan dibagi dengan jumlah sisi fermentor, maka didapatkan nilai rata - rata ketebalan BC. Grafik peningkatan ketebalan BC yang dipengaruhi berat sukrosa dan pH awal medium dapat diamati pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Grafik Pengaruh Berat Sukrosa Dan pH Optimum Medium Terhadap Ketebalan BC

Ketebalan BC merupakan tingginya lapisan selulosa yang dihasilkan oleh starter bakteri *Acetobacter xylinum*. Dalam pembentukan BC, aktivitas *Acetobacter xylinum* membutuhkan makronutrien seperti sukrosa sebagai sumber karbon dan juga membutuhkan sumber nitrogen berupa ammonium sulfat. Sukrosa digunakan sebagai sumber energi yang ditambahkan dengan berat tertentu untuk kegiatan metabolisme *Acetobacter xylinum* dan sisanya akan dibentuk menjadi lapisan BC (Yusmarini dkk., 2004). Pada penelitian ini produksi BC paling optimum terdapat pada penambahan berat sukrosa 100 gram, menghasilkan BC dengan ketebalan 1,5125 cm. Semakin banyak penambahan sukrosa maka akan meningkatkan ketebalan BC (Naufalin dan Wibowo, 2004), namun penambahan gula yang berlebihan akan mengakibatkan pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri terganggu dan mengakibatkan banyak gula yang diubah menjadi asam yang menyebabkan penurunan pH secara drastis sehingga BC yang dihasilkan tidak maksimal (Herawaty dan Moulina, 2015). Selain berat sukrosa, pH juga menjadi faktor yang mempengaruhi produksi BC selama proses fermentasi. Selama proses fermentasi, mikroorganisme (*Acetobacter xylinum*) memerlukan kondisi pH tertentu sebagai faktor penting untuk pertumbuhannya agar dapat memproduksi BC dalam jumlah besar. Nilai pH di dalam medium fermentasi harus dipertahankan di bawah 6,0 (Sulaiman, F., 2023). Pada penelitian ini BC dengan ketebalan tertinggi didapat pada pH 4. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Munawwaro, S. (2009) tentang pengaruh pH media dan lama fermentasi (*Acetobacter xylinum*) terhadap hasil nata de coco, bahwa kombinasi perlakuan yang menghasilkan nata de coco dengan sifat-sifat paling baik diperoleh pada pH 4 dan lama fermentasi 14 hari.

4.2 Pengaruh Berat Sukrosa dan pH awal medium terhadap perubahan pH selama Fermentasi

Glukosa (Sukrosa) merupakan salah satu sumber makronutrien untuk pertumbuhan bakteri dalam proses fermentasi. Berat sukrosa pada substrat fermentasi berdampak terhadap pH medium selama proses berlangsung. Besar atau kecilnya berat sukrosa dapat mempengaruhi aktivitas bakteri asam laktat dalam

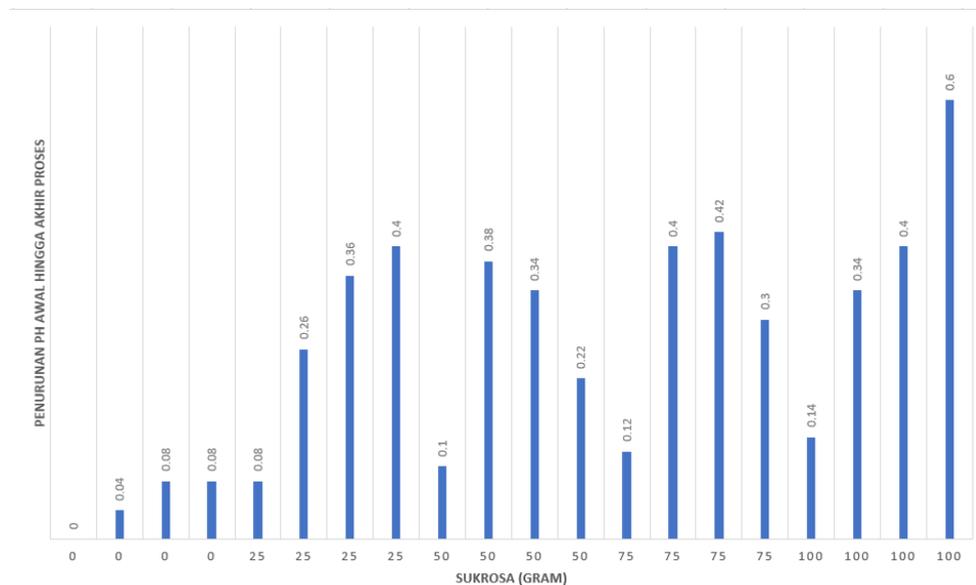
merombak nutrisi pada substrat (sukrosa) selama proses fermentasi. Kemudian pH awal proses fermentasi berpengaruh terhadap optimasi pertumbuhan bakteri. Bakteri memiliki rentang pH ideal untuk tumbuh, ketika pH awal sesuai dengan pH ideal bakteri maka aktivitas bakteri dalam merombak nutrisi dan memanfaatkan senyawa organik dalam substrat akan semakin baik sehingga berpengaruh kepada pH selama proses. Berdasarkan hal ini maka terdapat korelasi antara berat sukrosa, pH awal medium dan pH selama proses fermentasi. Tabel 4.2 menunjukkan pengaruh berat sukrosa dan pH awal medium terhadap pH selama proses fermentasi.

Tabel 4.2 Data pH selama proses fermentasi

Berat Sukrosa (g)/500 mL	pH awal medium	pH Fermentasi		
		Hari ke-0	Hari ke-10	Hari ke-15
0	3	3	3	3
	4	4	3,96	3,96
	5	5	4,98	4,92
	6	6	5,92	5,92
25	3	3	2,96	2,92
	4	4	3,86	3,74
	5	5	4,88	4,64
	6	6	5,78	5,6
50	3	3	3	2,9
	4	4	3,8	3,62
	5	5	4,78	4,66
	6	6	5,9	5,78
75	3	3	2,96	2,88
	4	4	3,89	3,6
	5	5	4,8	4,58
	6	6	5,88	5,7
100	3	3	2,96	2,86
	4	4	3,8	3,66
	5	5	4,78	4,6
	6	6	5,76	5,4

Tabel 4.2 merupakan tabel data perubahan pH selama proses fermentasi akibat penambahan sukrosa dan lamanya waktu fermentasi. Gambar 4.2

menunjukkan pengaruh berat sukrosa dan pH awal medium terhadap pH selama proses fermentasi.

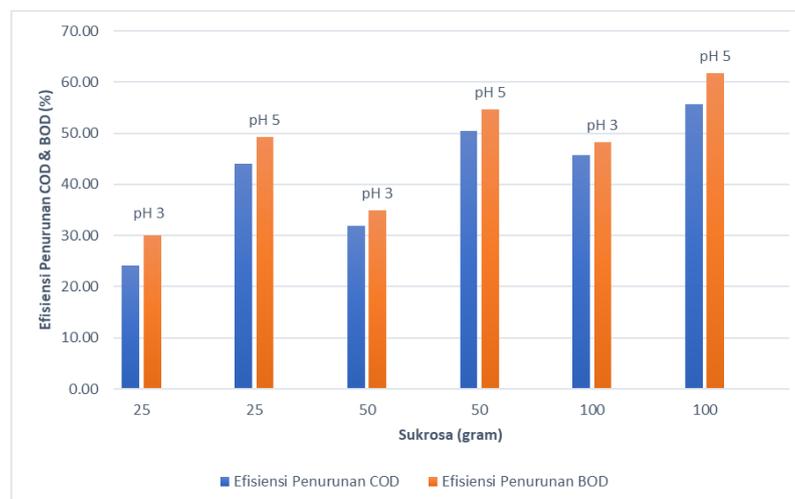


Gambar 4.2 Grafik pengaruh berat sukrosa dan pH awal medium terhadap pH selama proses fermentasi

Tabel 4.2 dan Gambar 4.2 menunjukkan bahwa semakin banyak penambahan sukrosa dan semakin lama proses fermentasi, maka pH medium fermentasi akan menurun (semakin asam). Semakin tinggi berat sukrosa maka total asam yang dihasilkan semakin tinggi. Hal ini disebabkan karena substrat (sukrosa) yang tersedia lebih tinggi dibandingkan perlakuan lain, sehingga bakteri asam laktat dapat menggunakan substrat tersebut sebagai nutrisi pertumbuhan dan menghasilkan asam yang lebih banyak. Kemudian semakin lama fermentasi maka total asam yang dihasilkan semakin meningkat. Hal ini dikarenakan total asam meningkat seiring dengan lama fermentasi sehingga semakin banyak waktu yang tersedia bagi bakteri asam laktat untuk merombak nutrisi yang terkandung dalam substrat dan dapat memungkinkan terakumulasinya asam-asam organik dalam jumlah yang lebih banyak (Yunus, Y., & Zubaidah, E., 2015).

4.3 Pengaruh Berat Sukrosa dan pH awal terhadap Nilai COD dan BOD Medium Fermentasi

Chemical oxygen demand (COD) dan *biological oxygen demand* (BOD) merupakan kadar pencemar di dalam limbah cair yang amat berbahaya bagi makhluk hidup. COD merupakan jumlah oksigen yang dibutuhkan dalam kondisi khusus untuk menguraikan senyawa organik secara kimiawi, sedangkan BOD merupakan suatu karakteristik yang menunjukkan jumlah oksigen terlarut yang diperlukan oleh mikroorganisme untuk menguraikan atau mendekomposisi bahan organik dalam kondisi aerobik. COD dan BOD ini dapat dikurangi melalui aktivitas bakteri seperti pada proses fermentasi. Bakteri akan mengurai senyawa organik sehingga nilai COD dan BOD cairan tersebut menurun. Gambar 4.3 menunjukkan pengaruh berat sukrosa dan pH awal medium fermentasi terhadap efisiensi penyisihan COD dan BOD pada awal hingga akhir proses.



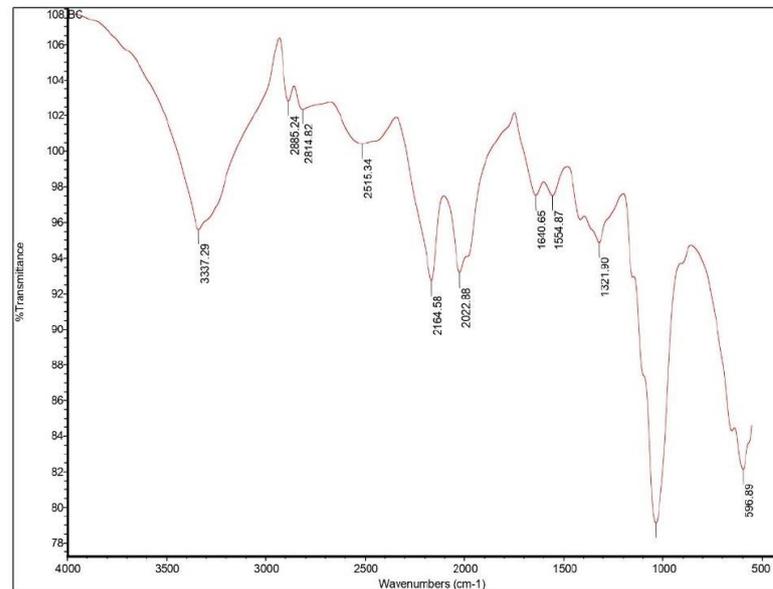
Gambar 4.3 Grafik Pengaruh Berat Sukrosa Dan pH Awal Medium Fermentasi Terhadap Efisiensi Penyisihan COD Dan BOD Medium Fermentasi

Gambar 4.3 menunjukkan efisiensi penurunan COD dan BOD pada awal hingga akhir proses akibat penambahan berat sukrosa dan pH awal medium fermentasi. Dilihat pada Gambar 4.3 sampel dengan efisiensi penurunan COD dan BOD tertinggi yaitu kondisi awal medium pada pH 5 dan penambahan sukrosa

sebanyak 100 gram yaitu sebesar 61,7% (COD) dan 55,7% (BOD). Penambahan sukrosa pada awal proses akan menaikkan nilai COD medium fermentasi. Bakteri *Acetobacter xylinum* yang ditambahkan pada medium akan tumbuh dan berkembang dengan memanfaatkan bahan-bahan berupa sukrosa dan mikronutrien dengan diindikasikan terbentuknya BC. Proses ini dikenal dengan istilah anabolisme yaitu proses sintesis molekul kimia kecil menjadi molekul yang lebih kompleks atau proses pemecahan komponen gula sehingga terbentuk suatu polisakarida yang tidak beracun (ekstraseluler selulosa) oleh bakteri *Acetobacter xylinum* (Whistler et al, 1976). Dengan adanya aktivitas *Acetobacter xylinum* dalam memanfaatkan sukrosa, maka akan menurunkan kandungan bahan organik yang ada dalam medium. Berkurangnya kandungan sukrosa dalam medium menyebabkan nilai COD dan BOD menurun (Nisa, F. C., 2002). Kemudian ditinjau dari pH mediumnya, pH 5 dapat dikatakan suasana yang cukup ideal untuk pertumbuhan dan aktivitas *Acetobacter xylinum*, sehingga kadar COD yang terdapat didalam limbah cair mengalami penurunan, hal ini didukung dengan literatur bahwa *Acetobacter xylinum* dapat tumbuh pada kisaran pH 3,5-7,5 dengan pH optimum 4,3, sedangkan metabolisme sel bakteri tersebut akan terganggu pada kondisi basa (Sulaiman, F., 2023).

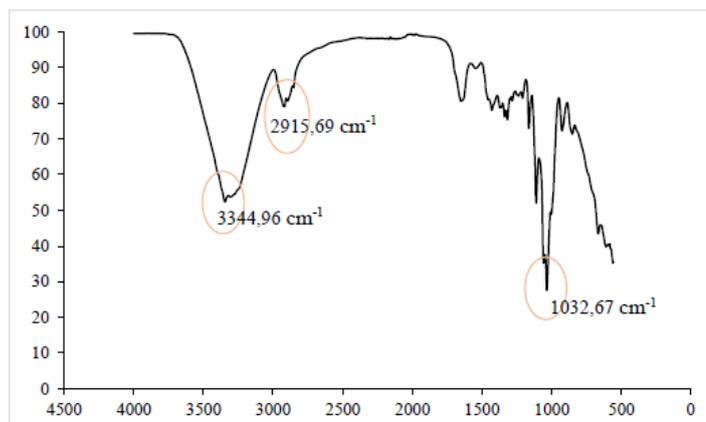
4.4 Uji *Fourier Transform Infrared* (FTIR) BC

Fourier Transform Infrared (FTIR) yaitu metode yang digunakan untuk menganalisa gugus fungsional dari bahan atau sampel dengan menggunakan metode *Attenuated Total Reflectance* (ATR). Gambar 4.4 menunjukkan gugus fungsi dari BC yang dihasilkan dalam penelitian ini.



Gambar 4.4 Grafik Analisa *Fourier Transform Infrared* (FTIR) BC

Gambar 4.4 menunjukkan bahwa BC memiliki empat puncak utama yang terletak pada *range* bilangan gelombang 1.030; 1.321; 2.022-2.164, dan 3.337 cm^{-1} . Bilangan gelombang pada *range* 1.030 cm^{-1} merupakan gugus fungsional C–O (Ballén et al., 2016). Bilangan gelombang pada *range* 3.337 cm^{-1} merupakan gugus fungsional –OH (Serbanescu et al., 2020). Selanjutnya untuk bilangan gelombang pada *range* 2.022-2.164 cm^{-1} mengindikasikan adanya gugus fungsi C–H yang merupakan ikatan utama pada selulosa (Ballén et al., 2016; Nadiratuzzahra & Tristantini, 2020). Pada penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Panjaitan, dkk. (2023) ditemukan puncak selulosa khas pada bilangan gelombang 1.031 (cm^{-1}) sesuai dengan peregangan simetris C–O dari alkohol primer yang ditunjukkan pada gambar 4.5 dan tabel 4.3 dibawah ini.



Gambar 4.5 Analisa *Fourier Transform Infrared* (FTIR) Biofilm BC (Panjaitan, dkk. 2024)

Tabel 4.3 Perbandingan Analisis spektrum FTIR

Bilangan Gelombang BC (cm ⁻¹)	Jenis Ikatan	Bilangan Gelombang Referensi (cm ⁻¹)	Sumber
1.030	-O-H (regangan)	3.344,96	(Panjaitan, dkk. 2024)
1.321	-C-H (regangan)	2.915,69	
2.022 – 2.164	C-O-C (<i>fingerprnt</i>)	1.162,64	
3.337	-C-O (regangan)	1.032,67	

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah

1. Kondisi operasi terbaik untuk mendapatkan penurunan COD dan BOD tertinggi dalam proses pemanfaatan limbah cair tepung aren menjadi BC adalah pada pH awal medium 5 dan penambahan berat sukrosa 100 gram. Pada kondisi tersebut, efisiensi penurunan COD mencapai 61,7% dan efisiensi penurunan BOD mencapai 55,7%.
2. Kondisi operasi terbaik untuk mendapatkan BC dengan kuantitas terbaik dalam pemanfaatan limbah cair industri tepung aren adalah pada pH awal medium 4 dan penambahan berat sukrosa 100 gram. Pada kondisi tersebut dihasilkan BC dengan ketebalan tertinggi yaitu 1,5125 cm setelah 15 hari selama proses fermentasi.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan pada penelitian ini yaitu menambahkan variasi bahan baku selain limbah cair tepung aren agar dapat mengetahui perbedaan pertumbuhan selulosa bakteri selama proses fermentasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Aini, S. dan Nur, F. 2019. Penambahan Ekstrak Jeruk Nipis dan Konsentrasi Inokulum Terhadap Karakteristik Nata de Soya dari Limbah Cair Industri Tahu Kabupaten Klaten. *Jurnal Kimia Riset* 4(3) : 133 – 142.
- Amorim, dkk. (2020). Plant and bacterial nanocellulose: production, properties and applications in medicine, food, cosmetics, electronics and engineering. A review. *Environmental Chemistry Letters*.
- Ariefana, P. 2016. Produksi Gula Aren Lebak Banten Terbesar di Dunia. *Suara.com*. <https://www.suara.com/news/2016/08/19/115125/produksi-gula-aren-lebak-banten-terbesar-di-dunia>. 13 Oktober 2022 (22:15).
- Atima., W. 2015. BOD DAN COD SEBAGAI PARAMETER PENCEMARAN AIR DAN BAKU MUTU AIR LIMBAH. *Jurnal Biology Science & Education* 4(1) : Hal 83 – 93.
- Bae, S. dan M, Shoda. 2004. Bacterial cellulose production by fedbatch fermentation in molasses medium. *Biotechnol. Prog.* 20 : 1366-1371.
- Bantennews. 2018. Perusahaan Pembuat Tepung Aren di Lebak Diduga Cemari Sungai. <https://www.bantennews.co.id/perusahaan-pembuat-tepung-aren-di-lebak-diduga-cemari-sungai/>. 13 Oktober 2022 (22:10).
- Boby, C. A., Roni, A., dan Muhsinin, S. 2021. REVIEW: PRODUKSI, KARAKTERISASI DAN APLIKASI SELULOSA BAKTERI DI BIDANG FARMASI. *JOPS (Journal Of Pharmacy and Science)* 4(2) : 12-28.
- Chawla, P. R., Bajaj, I. B., Survase, S. A., dan Singhal, R. S.. 2009. Microbial cellulose : Fermentative production and applications. *Food Technol Biotechnol* : 107–124.
- Donini, I. A. N. 2010. Biosynthesis and recent advances in production of bacterial cellulose. *Eclética Química Journal*. 35(4) : 166–178.
- Erse, L. 2008. Pemanfaatan limbah cair Virgin Coconut Oil (VCO) sebagai bahan baku Selulosa bakteri dan aplikasinya sebagai Edible Cellulose Film (ECF) : majian lama fermentasi dan lama perendaman film dalam gliseri. Skripsi. Universitas Brawijaya.
- Esa, F., Tasirin, S. M. and Rahman, N. A. 2014. Overview of Bacterial Cellulose Production and Application. *Agriculture and Agricultural Science Procedia* : 113 – 119.

- Felasih, Eli. 2010. Pemanfaatan Selulosa Bakteri – Polivinil Alkohol (PVA) Hasil IRADIASI (Hidrogel) sebagai Matriks Topeng Masker Wajah. Skripsi. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Firdayanti, M. 2005. Studi karakteristik Dasar Limbah Industri Tepung Aren. Jurnal Infrastruktur dan Lingkungan Binaan 1.
- Fitriarni, D., et al. 2019. Biosintesis dan Karakterisasi Selulosa Bakteri menggunakan Media Sari Pedada (*Sonneratia caseolaris*) dan Kundur (*Benincasa hispida*). Jurnal Selulosa 9(1) : Hal 1-8.
- Hanlon, E. B., Manoharan, R., Koo, T. W., Shafer, K. E., Motz, J. T., Fitzmaurice, M., ... & Feld, M. S. (2000). Prospects for in vivo Raman spectroscopy. *Physics in Medicine & Biology*, 45(2), R1.
- Jay, J.M., Loessner, M.J., Golden, D.A. 2005. *Modern Food Microbiology* 7th ed. Springer Science.
- Moniri, M., Rahim, A. R., dan Saad Z. W. 2017. Production and status of bacterial cellulose in biomedical engineering. *Nanomaterials* : 1 – 26.
- Munawwaro, S. (2009). *PENGARUH pH MEDIA DAN LAMA FERMENTASI TERHADAP BASIL NATA DE COCO* (Doctoral dissertation).
- Nisa, F. C. (2002). Penurunan tingkat pencemaran limbah cair (whey) tahu pada produksi nata de soya (kajian waktu inkubasi). *Jurnal Teknologi Pertanian*, 3(2), 93-97.
- Nirwana, R., E. 2019. METODE KOMBINASI DALAM MENURUNKAN KADAR BOD5 DAN COD PADA LIMBAH CAIR TEPUNG AREN (Studi Kasus di Industri Tepung Aren Desa Daleman Kecamatan Tulung Kabupaten Klaten). Skripsi. Universitas Negeri Semarang.
- Nurfitriyani, et al. 2014. IMMOBILISASI SEL DAN EVALUASI KINERJA IMMOBILISASI SEL DALAM REAKTOR KOLOM. Politeknik Negeri Bandung.
- Panjaitan, dkk. (2023). Karakterisasi Biofilm Selulosa Bakteri dengan Modifikasi Gliserol secara Ex-situ. *Jurnal Teknik Kimia USU*, Vol 13, No.1: 17-23.
- Poedjiadi, A dan Titin, S. Poedjiadi, A dan Titin, S. 2006. *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press

- Pramono, B., S. Pemanfaatan Limbah Cair Industri Tepung Aren Sebagai Pupuk Cair pada Pertumbuhan Tanaman Bayam Cabut (*Amaranthus* sp). Skripsi. Universitas Muhamadiyah Surakarta.
- Purnama, T., W., dan Adinagara, A., H. 2015. STUDI PENGARUH MIKROORGANISME TERHADAP YIELD ETANOL PADA PROSES FERMENTASI BATCH. Skripsi. Institut Teknologi Sepuluh November.
- Putriana, I., Aminah, A. 2013. Mutu Fisik, Kadar Serat dan Sifat Organoleptik Nata de Cassava Berdasarkan Lama Fermentasi. *Jurnal Pangan dan Gizi*. 4(7) : 29 – 38.
- Rahmayetty, et al,. 2021. PEMANFAATAN LIMBAH CAIR INDUSTRI TEPUNG AREN SEBAGAI MEDIA FERMENTASI DALAM SINTESIS SELULOSA BAKTERI (Nata De Arenga). Penelitian. Universitas Sultan Ageng Tirtayasa.
- Ramayanti, D., dan Amna, U. 2019. Analisis Parameter COD (Chemical Oxygen Demand) dan pH (potential Hydrogen) Limbah Cair di PT. Pupuk Iskandar Muda (PT. PIM) Lhokseumawe. *Jurnal Kimia Sains dan Terapan* 1(1) : Hal 16 – 21.
- Ramdiana. 2017. Pengaruh Variasi Komposisi pada Campuran Limbah Cair Aren dan Kotoran Sapi Terhadap Produksi Biogas. Eksergi.
- Romasyah, Rio. 2010. Inovasi Rancang Bangun Bioreactor Celup (Alternate Dip Bioreactor) Untuk Produksi Bakterioselulosa (BC). Student Grant Batch I The Research Final. Universitas Riau.
- Satiawihardja, B., Wibisono, B., dan Murdiyatmo, U. 1999. Proses Fermentasi Fed-Batch untuk Produksi Dekstranase dengan *Streptococcus* sp. B7. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia* 4(2) : Hal 64 – 68.
- Sulaiman, F. (2023). Wastewater from the Arenga Starch Industry as a Potential Medium for Bacterial Cellulose and Cellulose Acetate Production. *Polymers*, 15(4), 870.
- Susanto, S. PROSES FERMENTASI (BATCH, FED BATCH DAN CONTINUES PROCESS). <https://anthosusantho.wordpress.com/bahan-ajar-kuliah/> . 25 Oktober 2022 (19:30).
- Voon, Y., W., W., Muhialdin, J., B., Yusof, L., N., Rukayadi, Y., dan Hussin, M., S., A. 2018. Bio-cellulose Production by *Beijerinckia fluminensis* WAUPM53 and *Gluconacetobacter xylinus* 0416 in Sago By-product Medium. *Appl Biochem Biotechnol*.
- Waluyo, L., “Mikrobiologi Umum”, hlm. 112, 114,116, 122, 128, 160, UMM Press., Malang, 2005

Yunus, Y., & Zubaidah, E. (2015). Pengaruh Konsentrasi Sukrosa Dan Lama Fermentasi Terhadap Viabilitas L. Casei Selama Penyimpanan Beku Velva Pisang Ambon [In Press April 2015]. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3(2), 303-312.

LAMPIRAN

A. Dokumentasi Kegiatan

No.	Kegiatan	Dokumentasi
1.	Pengendapan limbah cair tepung aren	
2.	Pemanasan limbah cair tepung aren hingga mendidih	
3.	Penambahan sukrosa dan ammonium sulfat	
4.	Pendinginan campuran hingga suhu ruang	

5.	Penambahan asam asetat glasial/NaOH hingga pH media sesuai dengan variasi	
6.	Penambahan starter <i>Acetobacter Xylinum</i>	
7.	Fermentasi selama 15 hari	