

## 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 <sup>6+</sup> )	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 <sub>2</sub> S)	mg/l	0,05	0,1
19	Flourida (F)	mg/l	2	3
20	Klorin bebeas (Cl <sub>2</sub> )	mg/l	1	2
21	Nitrat (NO <sub>3</sub> -N)	mg/l	20	30
22	Nitrit (NO <sub>2</sub> -N)	mg/l	1	3
23	BOD <sub>5</sub>	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 BOD<sub>5</sub>.

### **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 <sup>-3</sup>	1.566 g cm <sup>-3</sup>	1.5 g cm <sup>-3</sup>	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 10<sup>8</sup> dari molekul glukosa per jam menjadi *cellulose*, memiliki ukuran 0,6–0,8 μm dan terdapat pada tunggal, ganda, atau strain. Bakteri ini bakteri aerobik 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, fermentasi 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  $14000\text{ cm}^{-1}$  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.