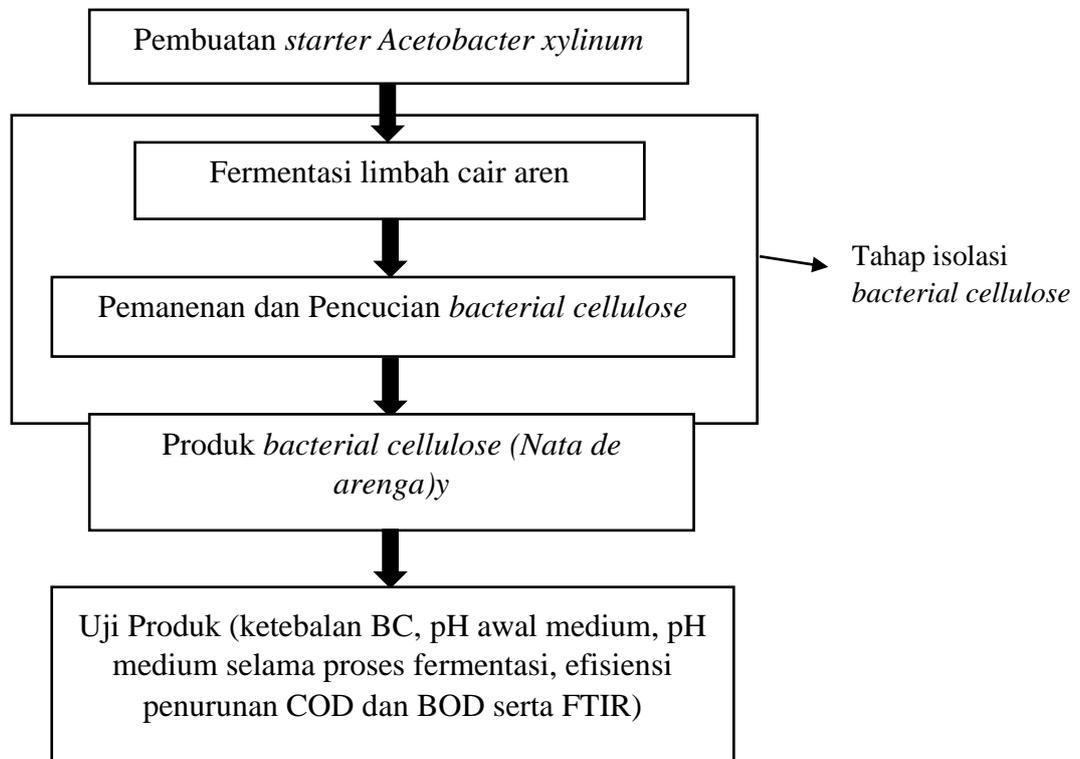


BAB III

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 blangko dan dicatat volume larutan FAS yang digunakan sebagai A.

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