



REPUBLIK INDONESIA
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

SURAT PENCATATAN CIPTAAN

Dalam rangka perlindungan ciptaan di bidang ilmu pengetahuan, seni dan sastra berdasarkan Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta, dengan ini menerangkan:

Nomor dan tanggal permohonan : EC00202151639, 1 Oktober 2021

Pencipta

Nama : **Dr. Rahmayetty, ST.,MT, Nufus Kanani, ST.,M.Eng dkk**
Alamat : Griya Cilegon Blok D1 No.9, Serang-Banten, Serang, BANTEN, 42416
Kewarganegaraan : Indonesia

Pemegang Hak Cipta

Nama : **Universitas Sultan Ageng Tirtayasa cq. Rektor Universitas Sultan Ageng Tirtayasa**
Alamat : Universitas Sultan Ageng Tirtayasa, Jl Pakupatan Serang , Serang, BANTEN, 42122
Kewarganegaraan : Indonesia
Jenis Ciptaan : **Laporan Penelitian**
Judul Ciptaan : **PEMANFAATAN LIMBAH CAIR INDUSTRI TEPUNG AREN SEBAGAI MEDIA FERMENTASI DALAM SINTESIS SELULOSA BAKTERI (Nata De Arenga)**
Tanggal dan tempat diumumkan untuk pertama kali di wilayah Indonesia atau di luar wilayah Indonesia : 22 September 2021, di Serang
Jangka waktu perlindungan : Berlaku selama 50 (lima puluh) tahun sejak Ciptaan tersebut pertama kali dilakukan Pengumuman.
Nomor pencatatan : 000278543

adalah benar berdasarkan keterangan yang diberikan oleh Pemohon.

Surat Pencatatan Hak Cipta atau produk Hak terkait ini sesuai dengan Pasal 72 Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta.

a.n. MENTERI HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA
DIREKTUR JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL



Dr. Freddy Harris, S.H., LL.M., ACCS.
NIP. 196611181994031001

Disclaimer:

Dalam hal pemohon memberikan keterangan tidak sesuai dengan surat pernyataan, menteri berwenang untuk mencabut surat pencatatan permohonan.

LAMPIRAN PENCIPTA

No	Nama	Alamat
1	Dr. Rahmayetty, ST.,MT	Griya Cilegon Blok D1 No.9, Serang-Banten
2	Nufus Kanani, ST.,M.Eng	Jatinegara Kaum Utara RT.004/007, Pulo Gadung
3	Muhamad Toha	Link Gardu Iman RT.003/002, Warnasari, Citangkil,
4	Alamsyah	Link. Barokah No.46 RT.001/013, Jombang Wetan, Jombang, Cilegon
5	Pabika Salsabila Witri	Taman Graha Asri Blok EE.9 No.22, RT.004/027, Serang,



LAPORAN PENELITIAN



PEMANFAATAN LIMBAH CAIR INDUSTRI TEPUNG AREN SEBAGAI MEDIA FERMENTASI DALAM SINTESIS SELULOSA BAKTERI (*Nata De Arenga*)

Tim Peneliti :

Dr. Rahmayetty, ST., MT	NIDN. 0002107405
Nufus Kanani, ST.,M.Eng	NIDN. 0006088401
Alamsyah	NIM. 3335180012
Muhamad Toha	NIM 3335180045
Pabika Salsabila Witri	NIM 7780200004

UNIVERSITAS SULTAN AGENG TIRTAYASA

OKTOBER 2021

RINGKASAN

Banten merupakan salah satu provinsi yang memiliki kapasitas produksi tepung aren yang cukup besar. Dalam proses produksi tepung aren, dihasilkan limbah berupa limbah padat dan cair. Limbah padat industri tepung aren sudah banyak dimanfaatkan masyarakat sebagai pangan ternak, sedangkan, limbah cair belum diolah sama sekali dan sangat berpotensi sebagai sumber pencemar lingkungan. Salah satu sungai yang telah tercemar adalah sungai Cipager yang berlokasi di daerah Lebak, Banten. Limbah cair ini dapat diolah kembali menjadi selulosa bakteri (*nata*) karena mengandung rasio C/N sebesar 15. Dalam mendapatkan selulosa bakteri dengan kualitas, kuantitas, dan yield terbaik, maka perlu dilakukan penelitian terhadap konsentrasi *Acetobacter xylinum* serta medium yang cocok. Tujuan dari penelitian adalah menentukan metode fermentasi terbaik yang menghasilkan yield dan kualitas selulosa bakteri terbaik, menentukan konsentrasi *Acetobacter xylinum* yang menghasilkan yield serta kualitas selulosa bakteri terbaik, dan menentukan konsentrasi medium untuk mendapatkan yield tertinggi. Metode yang digunakan adalah metode fermentasi *batch* dengan variasi medium substrat yaitu limbah cair industri tepung aren dan air kelapa dengan konsentrasi *Acetobacter xylinum* sebanyak 10% v/v. Dari Hasil penelitian didapatkan bahwa konsentrasi medium berupa limbah cair aren dapat menghasilkan ketebalan nata sebesar 1,4 cm dan substrat air kelapa setebal 1,8 cm. Yield nata yang didapatkan dari limbah cair industri aren adalah 41,3% dan dari air kelapa 50,9%. Konsentrasi *Acetobacterium xylinum* yang menghasilkan selulosa bakteri tertinggi pada medium limbah cair industri tepung aren adalah konsentrasi 15% (v/v) dengan yield sebesar 60,8 %

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah Subhanahu wa ta'ala yang telah memberikan kemudahan karunia dan rahmat-Nya dalam penulisan laporan penelitian ini dengan judul “Pemanfaatan Limbah Cair Tepung Aren Sebagai Media Fermentasi Dalam Sintesis Selulosa Bakteri (*Nata De Arenga*)”. Laporan penelitian ini merupakan luaran dari Hibah Penelitian Dasar Internal 2021, Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat-Universitas Sultan Ageng Tirtayasa..

Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ir. H. Fatah Sulaiman, ST.,MT, selaku Rektor Universitas Sultan Ageng Tirtayasa
2. Bapak Dr. Rusmana, Ir.,MP, selaku Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Sultan Ageng Tirtayasa.
3. Prof. Dr. Dra. Yeyen Maryani, M.Si, selaku sekretaris Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Sultan Ageng Tirtayasa
4. Bapak Prof. Dr. -Ing Asep Ridwan, ST., MT., IPM selaku Dekan Fakultas Teknik Universitas Sultan Ageng Tirtayasa.
5. Bapak Dr. Jayanudin, S.T., M.Eng. selaku pimpinan Prodi Teknik Kimia.
6. Semua Bapak dan Ibu, Staf Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Sultan Ageng Tirtayasa Universitas Sultan Ageng Tirtayasa.

Akhir kata tiada gading yang tak retak, penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam laporan penelitian ini. Oleh karena itu, kritik dan saran sangat pengembangan penelitian selanjutnya sangat diperlukan untuk kedalaman karya tulis dengan topik ini.

Serang, 29 September 2021

Dr. Rahmayetty, ST.,MT

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Sampul	i
Ringkasan.....	ii
Kata Pengantar.....	iii
Daftar Isi.....	iv
Bab I Pendahuluan.....	1
Bab II Tinjauan Pustaka.....	4
Bab III Metode Penelitian.....	9
Bab IV Hasil dan Pembahasan.....	13
Bab V Kesimpulan.....	20
Daftar Pustaka.....	21

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Banten merupakan salah satu provinsi yang memiliki kapasitas produksi berbasis aren cukup besar yaitu berupa gula aren dan tepung aren. Dalam proses produksi tepung aren, dihasilkan limbah berupa limbah padat dan cair. Limbah padat industri tepung aren sudah banyak dimanfaatkan masyarakat sebagai pangan ternak, sedangkan, limbah cair belum diolah sama sekali dan sangat berpotensi sebagai sumber pencemar lingkungan. Salah satu sungai yang diduga tercemar limbah cair aren adalah sungai Cipager di Desa Lebak Peundeuy, Kecamatan Cihara, Kabupaten Lebak-Banten (Bantennews, 2018). Limbah cair aren masih mengandung BOD sebesar 2222 mg/L, COD sebesar 5721,5 mg/L (dari proses pengendapan), amoniak sebesar 9,929 mg/L (Firdayanti, 2005), dan rasio C/N sebesar 15 (Ramdiana, 2017). Salah satu cara yang dapat digunakan untuk mengurangi pencemaran lingkungan akibat limbah cair tepung aren adalah dengan mengolah kembali limbah cair tersebut menjadi suatu produk yang berguna. Berdasarkan kandungan yang dimiliki oleh limbah cair aren, maka, limbah cair aren tersebut dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan selulosa.

Selulosa adalah polimer alam yang diproduksi oleh bakteri dan tumbuhan. Selulosa yang dihasilkan oleh bakteri dikenal sebagai selulosa bakteri (*nata*). Selulosa bakteri memiliki rumus molekul yang sama dengan selulosa tanaman, yaitu $(C_6H_{10}O_5)_n$, akan tetapi ciri fisik dan kimia keduanya berbeda (Donini *et al.*, 2010). Selulosa bakteri mempunyai tingkat kemurnian yang tinggi dibandingkan selulosa tumbuhan serta memiliki karakteristik struktural dan mekanik yang unik sehingga dapat dimanfaatkan untuk berbagai keperluan industri seperti makanan, plastik, medis, dan kertas (Sitti *et al.*, 2019). Selulosa bakteri diproduksi oleh kelompok bakteri asam asetat dalam medium sintetik maupun non sintetik melalui proses fermentasi (Esa, Tasirin, dan Rahman, 2014). Selulosa bakteri umumnya diproduksi oleh kelompok bakteri genus *Acetobacter* yang saat ini dikenal dengan

nama *Glucanacetobacter xylinum* (sebelum dikenal dengan nama *Acetobacter xylinum*) (Moniri *et al.*, 2017).

Selulosa bakteri dapat dihasilkan dari berbagai limbah cair yang mengandung karbon dan nitrogen melalui proses fermentasi. Selulosa bakteri yang sangat terkenal dan sudah diproduksi secara komersil berasal dari air kelapa atau dikenal dengan istilah *nata de coco* (Afrizal dan Agung, 2011). Beberapa riset telah memfokuskan dalam mencari alternatif sumber media untuk menghasilkan *nata*, diantaranya adalah limbah cair sagu menggunakan bakteri *Beijerinckia fluminensis* (Voon *et al.*, 2019), limbah cair sagu menggunakan *Acetobacter xylinum* (Ahmad dkk., 2019), limbah cair tahu menggunakan *Acetobacter xylinum* (Aini dan Nur, 2019), limbah cair tepung singkong menggunakan *Acetobacter xylinum* (Putriana dan Aminah, 2013), dan molase menggunakan *Komagataeibacter rhaeticus* (Machado *et al.*, 2016). Berdasarkan perbedaan strain bakteri, didapatkan bahwa *Acetobacter xylinum* menghasilkan yield selulosa bakteri yang lebih tinggi dibandingkan dengan jenis bakteri yang lain (Chawla *et al.*, 2009). Selulosa bakteri yang berasal dari limbah cair tepung singkong dikenal dengan istilah *nata de cassava* dan dari limbah cair tahu dikenal dengan *nata de soya*. Berdasarkan rasio C/N dari limbah cair tepung aren, maka limbah cair ini berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan selulosa bakteri. Selulosa bakteri yang dihasilkan dari limbah cair tepung aren dapat disebut *nata de arenga*. Pemanfaatan limbah cair aren sebagai media produksi selulosa bakteri merupakan suatu terobosan baru, karena industri tepung aren jumlahnya cukup banyak di daerah Banten dan juga merupakan suatu upaya untuk mengurangi pencemaran lingkungan akibat limbah tersebut.

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan riset terkait pemanfaatan limbah tepung aren menjadi selulosa bakteri (*nata de arenga*) yang dapat dimanfaatkan dalam bidang makanan, plastik, medis, dan kertas. Dalam pembuatan *nata de arenga*, terdapat beberapa parameter yang harus diperhatikan, yaitu ketersediaan nutrisi (karbon dan nitrogen), dan konsentrasi dari *Acetobacter xylinum*.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam riset ini sebagai berikut.

- 1.2.1 Berapakah konsentrasi *Acetobacter xylinum* untuk menghasilkan kualitas dan yield selulosa bakteri terbesar dari limbah cair industri tepung aren
- 1.2.2 Bagaimana perbandingan perolehan selulosa bakteri menggunakan medium berbeda (limbah cair aren dan air kelapa).

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan khusus pada riset ini adalah sebagai berikut.

- 1.3.1 Menentukan konsentrasi *Acetobacter xylinum* yang menghasilkan yield dan kualitas selulosa bakteri terbaik.
- 1.3.3 Menentukan konsentrasi medium untuk mendapatkan yield tertinggi.

1.4 Ruang Lingkup Penelitian

Adapun ruang lingkup penelitian ini adalah sebagai berikut.

- 1.4.1 Limbah cair industri tepung aren yang digunakan berasal dari salah satu industri tepung aren yang ada di daerah Lebak, Banten.
- 1.4.2 Menciptakan *nata de arenga* sebagai terobosan baru yang bisa dimanfaatkan dalam berbagai bidang.
- 1.4.3 *Acetobacter xylinum* yang digunakan berasal dari PT. Biotechno, Serang, Indonesia.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Karakteristik Limbah Cair Aren

Menurut Nurcahyo (2015:44-48), limbah cair aren didapat dari proses penyaringan dan pengendapan tepung aren. Berdasarkan riset yang telah dilakukan oleh Firdayanti (2005), didapat karakteristik limbah cair aren melalui proses pengendapan, yaitu sebagai berikut.

Tabel 2.1 Baku Mutu dan Karakteristik Limbah Cair Aren dari Proses Pengendapan

No.	Parameter	Satuan	Baku Mutu		Hasil Analisis
			I	II	
Fisika					
1	Temperature	°C	38	40	27
2	Zat Padat Terlarut (TDS)	mg/L	2000	4000	2410
3	Zat Padat Tersuspensi (TSS)	µS/cm	200	400	720
Kimia					
1	pH			6 – 9	4,94
2	Amoniak bebas (NH ₃ -N)	mg/L	1	5	24,822
3	Nitrat (NO ₃)	mg/L	20	30	1,185
4	Nitrit (NO ₂)	mg/L	1	3	0,00
5	BOD	mg/L	50	150	1806
6	COD	mg/L	100	300	4231
8	MBAS	mg/L	5	10	0,265
9	Minyak & Lemak	mg/L	10	50	60

Sumber : Firdayanti (2005)

2.2 Selulosa Bakteri (*Nata*)

Selulosa bakteri (*nata*) merupakan zat yang menyerupai gel, tidak larut dalam air dan terbentuk pada permukaan media fermentasi air kelapa serta sari buah lainnya.

Aktivitas pembuatan *nata* dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu tingkat keasaman medium, suhu fermentasi, lama fermentasi, sumber nitrogen, sumber karbon, dan konsentrasi *starter Acetobacter xylinum* (Sutarminingsih, 2004). *Nata* merupakan makanan yang rendah kalori dan mempunyai kadar serat yang tinggi sehingga sangat memungkinkan untuk dikembangkan sebagai makanan bagi penderita diabetes millitus dan obesitas. Selain itu, *nata* mempunyai kelebihan lain, yaitu indeks kristanilitas, derajat polimerisasi, daya regang, dan daya serap sehingga lebih berpotensi untuk menjadi bahan baku biomaterial dalam berbagai industri (Shoda dan Sugano, 2005; Chawla, 2009). Penyebutan *nata* disesuaikan dengan substrat pertumbuhan *Acetobacter xylinum* sehingga ada beberapa nama *nata*, diantaranya yaitu *nata de pina*, yaitu *nata* yang diperoleh dari sari buah nanas, *nata de mango* dari sari buah mangga, *nata de soya* dari limbah tahu, *nata de cacao* dari limbah kakao dan lain sebagainya (Pambayun, 2002).

Beberapa riset pembuatan selulosa bakteri dilakukan dengan media limbah cair, yaitu limbah cair sagu menggunakan bakteri *Beijerinckia fluminensis* menghasilkan 1,55 gBC/L (Voon et al, 2019), limbah cair sagu menggunakan *Acetobacter xylinum* didapatkan yield 34,97% (Ahmad dkk., 2019:33-40) dan molase menggunakan *Komagataeibacter rhaeticus* didapat selulosa bakteri sebesar 4,01 g/L (Machado et al., 2018). Beberapa bakteri yang dapat menghasilkan selulosa adalah *Gluconacetobacter*, *Acetobacter*, *Agrobacterium*, *Aerobacterium*, *Azotobacter*, *Rhizpbium*, *Sarcina*, dan *Salmonella* (Singhsa et al., 2018). *Acetobacter xylinum* merupakan bakteri yang dapat menghasilkan selulosa bakteri dengan yield yang tinggi (Esa et al., 2014:113-119). *Acetobacter xylinum* tumbuh baik dalam media yang memiliki pH 3 sampai 4. Jika pH lebih dari empat atau kurang dari tiga, maka, proses fermentasi tidak akan dapat berjalan optimum. Suhu optimum untuk pertumbuhannya adalah pada suhu kamar (28 - 31°C) (Chunshom et al., 2018:296- 302). Berdasarkan studi literatur yang dilakukan, belum ada riset yang melaporkan isolasi selulosa bakteri menggunakan media fermentasi limbah cair aren. Pembuatan selulosa bakteri dengan media limbah cair aren merupakan suatu terobosan baru

karena pabrik tepung aren jumlahnya cukup banyak di daerah Banten dan dapat menjadi salah satu upaya untuk mengurangi pencemaran lingkungan.

Pemanfaatan limbah yang masih mengandung bahan organik melalui proses bioteknologi sederhana dengan bantuan mikrobia bakteri asam cuka (*Acetobacter xylinum*) untuk mendapatkan suatu produk baru, yaitu *nata*, yang dapat dikonsumsi dengan aman. Menurut Mendoza (1961), *nata* adalah padatan berwarna putih, tidak larut, bersifat seperti gelatin yang merupakan lapisan tipis dari sel dan polisakarida yang dibentuk oleh bakteri *Acetobacter xylinum*. Dimaguila (1976:475-484) menyatakan bahwa substansi *nata* itu sendiri adalah selulosa. Adapun beberapa syarat *nata* yang bermutu menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) yang berkaitan dengan uji organoleptik tertera pada tabel 2.2.

Tabel 2.2 Syarat Mutu *Nata* Kemasan Untuk Uji Organoleptik

No	Uji Organoleptik	Satuan	Persyaratan
1	Bau	-	Normal
2	Rasa	-	Normal
3	Warna	-	Normal
4	Tekstur	-	Normal

Sumber : SNI 01-4317-1996

2.3 *Acetobacter Xylinum*

Menurut Pambayun (2002), bakteri *Acetobacter xylinum* dapat membentuk *nata* jika ditumbuhkan dalam media yang sudah diperkaya karbon dan nitrogen melalui proses yang terkontrol. Dalam kondisi demikian, bakteri tersebut akan menghasikan enzim ekstraseluler yang dapat menyusun zat gula (dalam hal ini glukosa) menjadi ribuan rantai (homopolimer) atau selulosa. Dari jutaan jasad renik yang tumbuh dalam media tersebut, akan dihasilkan lembar benang – benang selulosa yang akhirnya nampak padat putih hingga transparan, yang disebut sebagai *nata*.

Dalam pertumbuhannya, *Acetobacter xylinum* memerlukan sumber nutrisi C, H, dan N serta mineral dan dilakukan dalam proses yang terkontrol dalam medium air kelapa karena mengandung sebagian sumber nutrisi yang dibutuhkan. Akan tetapi,

kebutuhan akan substrat makro seperti sumber C dan N masih harus tetap ditambah agar hasil *nata* yang dihasilkan optimal sehingga kekurangan nutrisi yang diperlukan harus ditambahkan dalam proses fermentasi. Sukrosa, glukosa, fruktosa, dan tepung merupakan sumber karbon (Iguchi *et al.*, 2000:261-270).

2.4 Fermentasi *Batch* dan *Fed-Batch*

Laju pertumbuhan bakteri pada fermentasi *batch* dipengaruhi oleh kondisi medium pertumbuhan. Selama proses fermentasi ini, mikroorganisme akan mengonsumsi substrat untuk dikonversi menjadi biomassa sehingga konsentrasi substrat semakin lama semakin menurun. Akibatnya, laju pertumbuhan mikroba juga akan menurun hingga mencapai fase kematian mikroba (Leoangraini, 2012:678- 683). Pada operasi *batch*, kandungan oksigen terlarut dan konsentrasi substrat semakin lama akan semakin menurun yang menyebabkan pertumbuhan bakteri menjadi kurang optimal (Zannini, 2005; Fu and Mathews, 1999) serta menghasilkan massa sel dan produk yang rendah dikarenakan konsentrasi substrat yang tinggi di awal proses menyebabkan terjadinya inhibisi substrat dan produk (Ding, 2006:1451- 1454).

Pada operasi fermentasi *fed-batch*, substrat diumpankan secara terus-menerus pada proses *batch* yang telah berlangsung tanpa penghilangan kaldu fermentasi (Ding, 2006:1451-1454). Produk diambil saat proses fermentasi telah selesai. Penambahan substrat bertujuan untuk memperpanjang kurva pertumbuhan dari bakteri sehingga didapat fasa log yang lebih panjang karena nutrisi yang hilang di awal proses digantikan kembali. Pada operasi ini, Jumlah konsentrasi glukosa yang memadai pada awal proses dan penambahan substrat umpan selama proses fermentasi berlangsung bertujuan untuk menghindari pengaruh penghambatan substrat terhadap produksi asam laktat dan pertumbuhan mikroba sehingga akan memberikan efisiensi proses yang sangat tinggi (Ding, 2006:1451-1454).

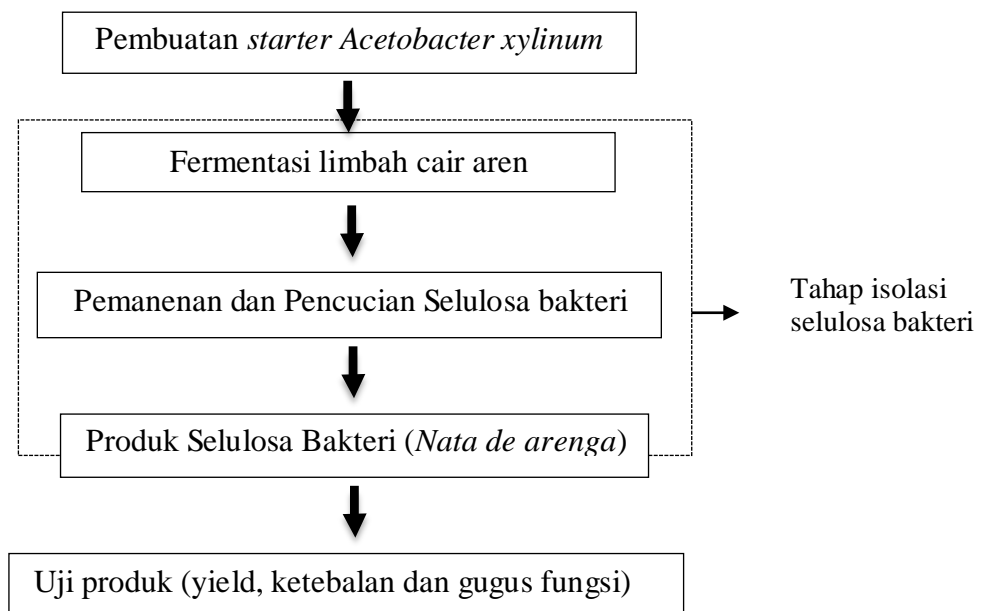
Riset tentang metode fermentasi *batch* dan *fed-batch* telah dilakukan oleh Leoanggraini (2012:678-683) dengan konsentrasi substrat glukosa 20 g/l menggunakan *Lactobacillus achidopilus*. Pada proses *batch* volume substrat yang digunakan sebesar 700 ml. Pada proses *fed-batch* volume substrat awal sebesar 500 ml dan penambahan substrat sebesar 200 ml dengan variasi laju alir umpan 5 ml/jam dan 30 ml/jam. Berdasarkan riset tersebut, didapatkan hasil terbaik, yaitu pada metode fermentasi *fed-batch* dengan laju alir substrat 5 ml/jam yang menghasilkan konsentrasi biomassa sebesar 13,429 g/l.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tahapan Penelitian

Penelitian ini akan 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 selulosa bakteri dari limbah cair industri tepung aren atau disebut dengan *nata de arenga* dilakukan melalui beberapa tahapan proses, yaitu pembuatan *starter Acetobacter xylinum*, isolasi selulosa bakteri dari limbah cair industri tepung aren yang meliputi fermentasi, pemanenan, pencucian dan tahap uji kualitas dan kuantitas selulosa bakteri yang dihasilkan. Uji produk selulosa (*nata*) meliputi uji organoleptik (bau dan rasa), warna (tingkat kecerahan), ketebalan, serta perolehan selulosa (yield). Adapun tahapan penelitian keseluruhan terlihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Diagram Alir Tahapan Proses Penelitian

3.2 Prosedur Penelitian

3.2.1 Tahap Pembuatan *Starter*

Limbah cair tepung aren sebanyak 1000 ml diendapkan dan disaring dengan kain kasa. Setelah itu limbah cair dipanaskan sampai temperatur 100°C dan ditambahkan asam asetat glasial 10 ml, ammonium 5 gram, glukosa 100 gram sambil diaduk hingga tercampur sempurna. Larutan dimasukkan ke dalam botol kaca masing-masing sebanyak 500 ml dan ditutup dengan kertas yang sudah disterilkan. Setelah dingin, masukkan masing-masing 10 ml suspensi *Acetobacter xylinum*. Inkubasi larutan *starter* selama 14 hari untuk selanjutnya dapat digunakan dalam sintesis selulosa bakteri (*nata*).

3.2.2 Isolasi Selulosa Bakteri dari Limbah Cair Aren

Limbah cair aren sebanyak 500 ml dipanaskan sampai mendidih. Lalu dimasukkan dalam fermentor dan ditambahkan glukosa sebanyak 100 gr, amonium phospat (*ZA-food grade*) 1%b/v serta asam asetat glasial hingga pH media mencapai 3-4. Inokulum *Acetobacter xylinum* ditambahkan dengan variasi volume yaitu 5%,10, 15 dan 20%v/v pada media fermentasi. Fermentasi dilakukan 14 hari dalam wadah kaca ditutup rapat menggunakan kertas. Lapisan selulosa 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. Selulosa yang terbentuk diukur ketebalannya dan dilakukan uji organoleptik meliputi bau dan rasa. Kemudian selulosa dikeringkan pada suhu 70°C selama 24 jam. Setelah kering dilakukan perhitungan yield, analisa gugus fungsi, struktur morfologi, dan warna (tingkat kecerahan). Lakukan cara yang sama untuk substrat berupa air kelapa pada limbah.

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

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

- a. Fermentor (botol kaca ukuran 600 ml).
- b. PH meter
- c. Limbah cair aren dari industri tepung aren, di daerah Lebak, Banten.

- d. Air kelapa diambil dari penjual kelapa di kota Cilegon.
- e. *Acetobacter xylinum* dari PT. Biotek
- f. Asam asetat glasial dan asetat anhidrid dari Merck, Indonesia
- g. Amonium phospat dari Merck, Indonesia
- h. NaOH

3.4 Variabel Penelitian

Adapun variabel bebas pada penelitian ini adalah Konsentrasi *Acetobacter xylinum*, dan konsentrasi medium. Variabel terikat pada penelitian ini adalah yield dan kualitas dari selulosa bakteri (*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 selulosa. Analisa yang dilakukan pada penelitian ini adalah analisa jumlah bakteri pada saat pembuatan starter dengan menggunakan Total Plate Count (TPC), uji organoleptik (bau dan rasa), ketebalan selulosa, dan perolehan (yield).

- a. Analisa jumlah bakteri dengan menggunakan total plate count (TPC).

Menumbuhkan sel mikroorganisme yang masih hidup pada media agar, sehingga mikroorganisme akan berkembangbiak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dan dihitung.

Sebelum mikroorganisme ditumbuhkan dalam media, terlebih dahulu dilakukan pengenceran sampel menggunakan larutan fisiologis. Tujuan dari pengenceran sampel yaitu mengurangi jumlah kandungan mikroba dalam sampel sehingga nantinya dapat diamati dan diketahui jumlah mikroorganisme secara spesifik sehingga didapatkan perhitungan yang tepat. Pengenceran memudahkan dalam perhitungan koloni.

Tahapan pengenceran dimulai dari membuat larutan sampel sebanyak 10 mL (campuran 1 mL/1 gr sampel dengan 9 mL larutan fisiologis). Dari larutan tersebut diambil sebanyak 1 mL dan masukkan kedalam 9 mL larutan fisiologis sehingga didapatkan pengenceran 10^2 . Dari pengenceran 10^{-2} diambil lagi 1 mL dan dimasukkan kedalam tabung reaksi berisi 9 mL larutan fisiologis sehingga

didapatkan pengenceran 10^3 , begitu seterusnya sampai mencapai pengenceran yang diharapkan.

- b. Uji ketebalan *nata* menggunakan penggaris.
- c. Analisa gugus fungsi menggunakan *fourier transform Infra red* (FTIR)
- d. Perhitungan yield dengan menimbang produk yang didapatkan dengan limbah yang digunakan dan memasukkan dalam persamaan :

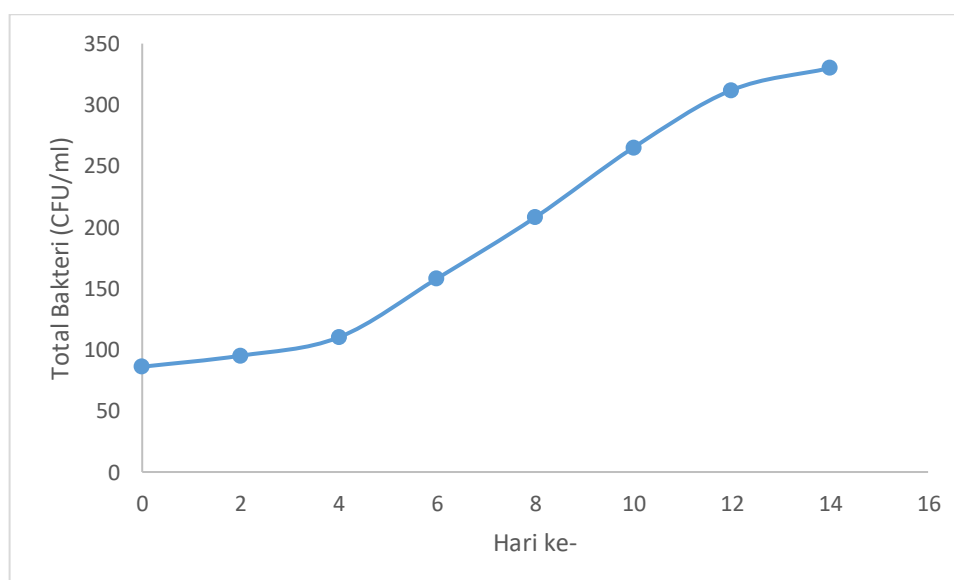
$$Yield = \frac{\text{berat selulosa yang dihasilkan (gr)}}{\text{berat total media fermentasi (gr)}} \times 100\%$$

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pertumbuhan *Acetobacter xylinum* selama pembentukan starter

Tahap pembuatan starter *Acetobacter xylinum* adalah tahapan untuk mengembangkan bakteri dan mengadaptasikan dengan medium substrat yang diberikan. Pertambahan jumlah bakteri setiap waktu dihitung dengan menggunakan alat *Total Plate Count* (TPC).



Gambar 4.1 *Acetobacter xylinum* selama pembentukan starter

Acetobacter xylinum merupakan bakteri yang mampu menghasilkan selulosa dari sumber glukosa melalui proses fermentasi. Pada proses *batch* data yang dihasilkan dengan analisa TPC (*Total Plate Count*) menunjukkan bahwa total *Acetobacter xylinum* mengalami kenaikan seiring lamanya waktu aklimatisasi, seperti ditunjukkan Gambar 4.1.

Pada empat hari pertama bakteri mengalami fase lag atau adaptasi terlihat dengan peningkatan jumlah bakteri yang tidak terlalu signifikan. Fase exponential (pertumbuhan cepat) mulai terjadi setelah hari ke empat. Peningkatan ini

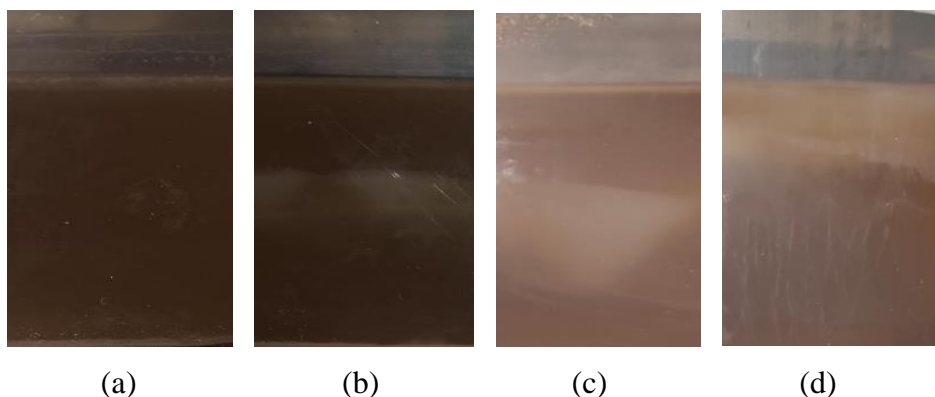
dipengaruhi oleh jumlah nutrisi yang terkandung dalam limbah cair aren yang mencukupi dan kondisi bakteri yang sudah beradaptasi dengan media. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Kumalasari dkk. (2012) yang menyatakan bahwa sel sel bakteri mampu tumbuh dan membelah diri secara aksonensial sampai jumlah maksimum yang dipengaruhi oleh kondisi lingkungan dan nutrisi di dalam media. Pertumbuhan mikroba erat kaitannya dengan media tumbuh yang tersedia untuk pertumbuhan mikroba di dalamnya Laju pertumbuhan *Acetobacter xylinum* selama proses aklimatisasi dalam pembuatan starter dapat dihitung dengan persamaan :

$$\mu_{net} = \frac{\ln X_2 - \ln X_1}{t_2 - t_1} = \frac{\ln 384 - \ln 158}{14 - 6} = 0,11 \text{ day}^{-1}$$

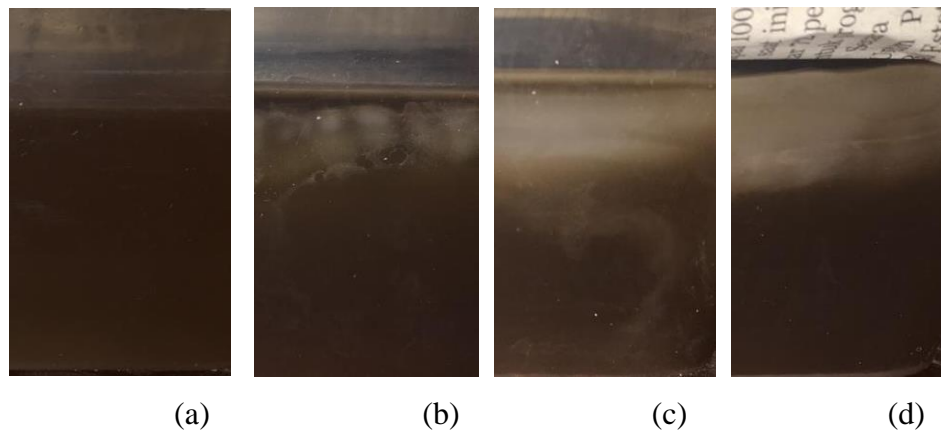
Dari hasil perhitungan didapatkan laju pertumbuhan netto *Acetobacter xylinum* sebesar 0,11 day⁻¹.

4.2. Isolasi Selulosa Bakteri dengan Variasi Substrat

Selulosa bakteri diisolasi dari limbah cair aren murni dan campuran antara limbah cair aren dengan air kelapa dengan waktu fermentasi 14 hari. Adapun pertumbuhan selulosa bakteri selama proses fermentasi pada medium limbah cair industri tepung aren dan air kelapa dengan konsentrasi *Acetobacter xylinum* 10% dapat dilihat pada Gambar 4.2 dan 4.3.



Gambar 4.2 Hasil fermentasi limbah cair tepung aren hari ke-(a) 0; (b) 4; (c) 8; (d) 12

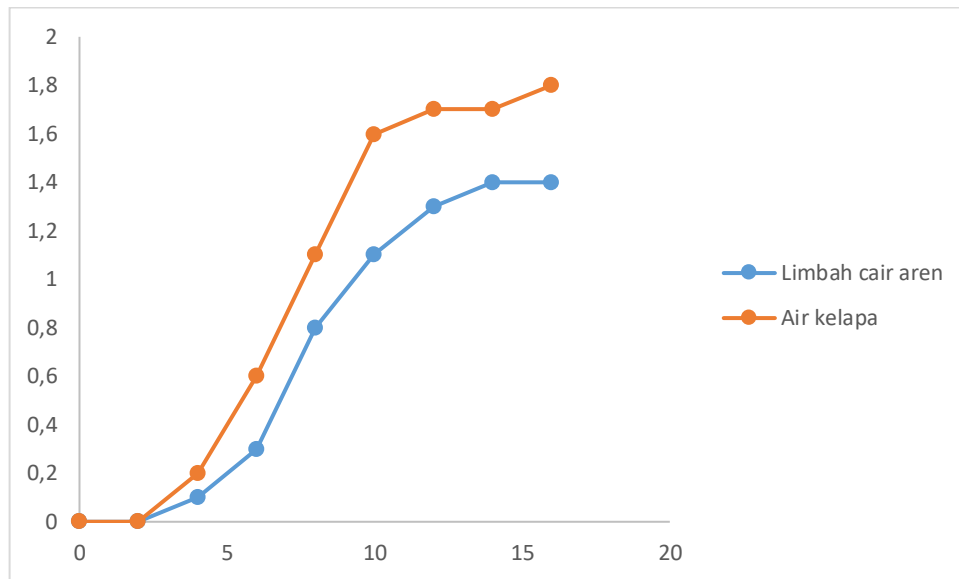


Gambar 4.3 Hasil fermentasi air kelapa hari ke- (a) 0; (b) 4; (c) 8; (d) 12

Dari Gambar 4.2 dan 4.3 terlihat bahwa pembentukan selulosa bakteri terus bertambah seiring dengan waktu yang ditandai dengan penambahan ketebalan nata yang terbentuk pada medium limbah cair tepung aren dan air kelapa.

Berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan yang tersaji pada Gambar 4.2 terlihat bahwa pertumbuhan mikroba dengan media limbah cair industri tepung aren memiliki laju pertumbuhan yang relatif lebih lambat dibandingkan dengan media air kelapa. Hal ini disebabkan didalam limbah cair tepung aren memiliki kandungan karbohidrat sehingga mikroorganismenya membutuhkan waktu dalam untuk menguraikan karbohidrat menjadi glukosa. Glukosa yang ada didalam limbah menjadi sumber karbon untuk menghasilkan produk extracellular dari proses fermentasi. Kandungan gula reduksi limbah cair industri tepung aren dan air kelapa masing-masing secara berurutan adalah 67,8 mg/L dan 58,4 mg/L. Lebih tingginya kandungan gula pada limbah cair aren dibandingkan air kelapa menyebabkan

Penambahan ketebalan selulosa bakteri pada proses fermentasi dengan menggunakan media limbah cair industri tepung aren dan air kelapa dengan konsentrasi *Acetobacterium xylinum* 10% dapat dilihat pada Gambar 4.4.

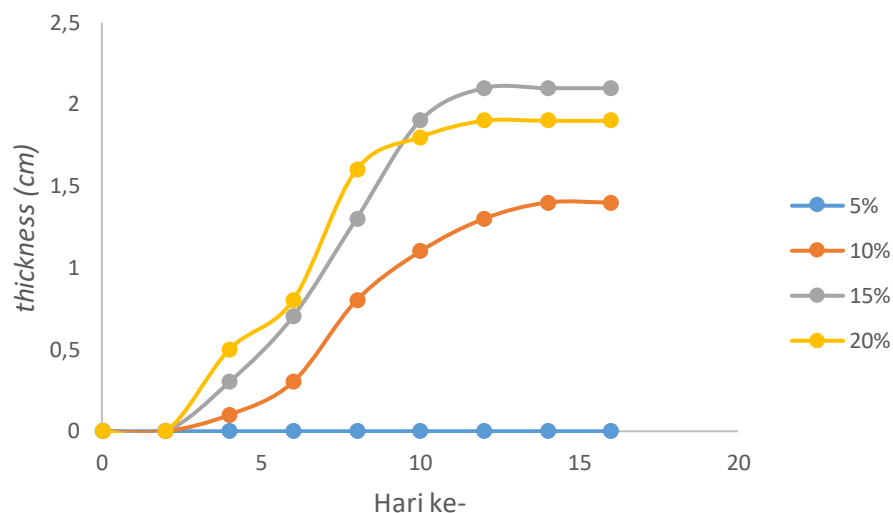


Gambar 4.3 Ketebalan selulosa bakteri dalam medium limbah cair aren dan air kelapa

Perolehan selulosa bakteri dalam medium limbah cair industri tepung aren yang dihasilkan sebanding dengan ketebalan produk. Ketebalan selulosa bakteri pada hari ke-14 untuk masing-masing medium limbah cair industri tepung aren dan air kelapa adalah 1,4 dan 1,8 cm. Yield yang didapatkan sebesar 41,3% untuk limbah cair industri tepung aren dan 50,9% untuk air kelapa.

4.3. Pengaruh Variasi Konsentrasi *Acetobacterium xylinum* terhadap perolehan selulosa bakteri

Penambahan ketebalan selulosa bakteri pada proses fermentasi dengan menggunakan media limbah cair industri tepung aren dengan variasi *Acetobacterium xylinum* dapat dilihat pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Ketebalan selulosa bakteri dalam medium limbah cair aren dengan variasi konsentrasi *Acetobacterium xylinum*

Variasi konsentrasi *Acetobacterium xylinum* sangat menentukan banyaknya selulosa bakteri yang terbentuk. Konsentrasi *Acetobacterium xylinum* yang menghasilkan selulosa bakteri tertinggi dalam penelitian ini adalah 15% dengan ketebalan selulosa bakteri 2,1 cm.

Perolehan selulosa bakteria dalam medium limbah cair industri tepung aren yang dihasilkan sebanding dengan ketebalan produk. Yield tertinggi didapatkan pada konsentrasi *Acetobacterium xylinum* 15%. Adapun yield yang dihasilkan tertera pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Yield selulosa bakteri

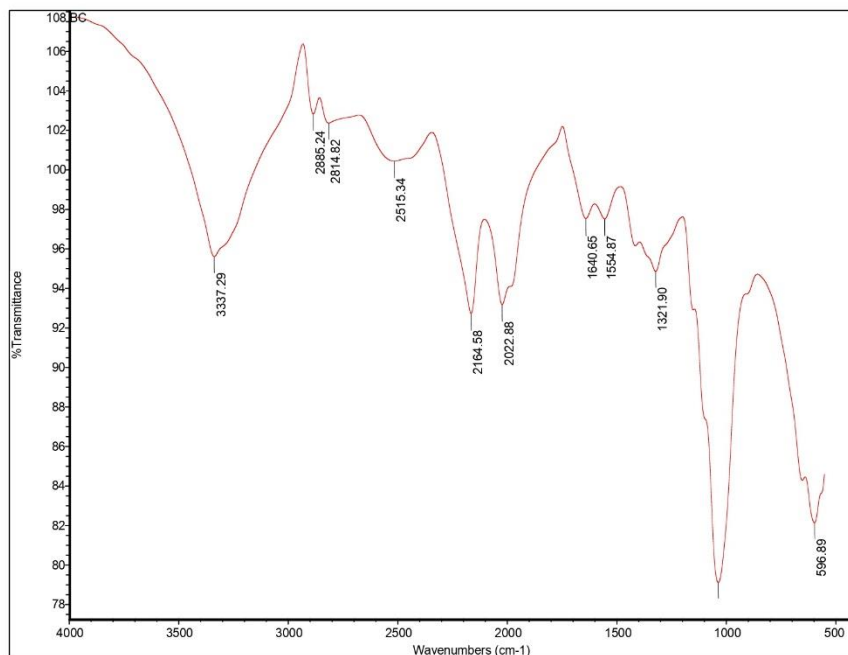
Konsentrasi <i>Acetobacterium xylinum</i>	Ketebalan selulosa bakteri (cm)	Yield (%)
5%	0	0
10%	1,4	41,3
15%	2,1	60,8
20%	1,9	51,7

Adapun produk selulosa bakteri yang dihasilkan setelah pemanenan terlihat pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Selulosa bakteri dari (a) limbah cair tepung aren dengan *Acetobacterium xylinum* 15%; (b) limbah cair aren dengan *Acetobacteri xylinum* 20%

Tekstur selulosa bakteri yang dihasilkan dari limbah cair aren dan campuran limbah cair aren dan air kelapa seperti Gambar 4.5 (a) dan (b) memiliki kekenyalan yang sama menyerupai kekenyalan nata de-coco. Analisa gugus fungsi selulosa bakteri menggunakan *fourier transform Infra red* (FTIR) dapat dilihat pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6 Hasil analisa *fourier transform Infra red* (FTIR) selulosa bakteri

Gambar 4.6 menunjukkan bahwa selulosa bakteri 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–C (Ballén et al., 2016), bilangan gelombang pada *range* 3.337 cm^{-1} merupakan gugus fungsional –OH (Serbanescu et al., 2020), sedangkan *range* pada bilangan gelombang 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). Kedua ikatan tersebut saling berikatan dan menyebabkan terbentuknya struktur heksagonal atom karbon.

BAB V

KESIMPULAN

Adapun kesimpulan yang didapat dari hasil penelitian dengan judul “Pemanfaatan Limbah Cair Industri Tepung Aren Sebagai Media Fermentasi Dalam Sintesis Selulosa (*Nata De Arenga*)” sebagai berikut :

- Konsentrasi *Acetobacterium xylinum* yang menghasilkan selulosa bakteri tertinggi adalah konsentrasi 15% (v/v) dengan yield sebesar 60,8 %
- Ketebalan selulosa bakteri pada hari ke-14 untuk medium limbah cair industri tepung aren dan air kelapa menggunakan konsentrasi *Acetobacterium xylinum* 10 % (v/v) masing-masing adalah 1,4 dan 1,8 cm. Yield yang didapatkan sebesar 41,3% untuk limbah cair industri tepung aren dan 50,9% untuk air kelapa.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrizal dan P. Agung. 2011. Pemanfaatan Selulosa Bakterial Nata de Coco Sebagai Adsorban Logam Cu(II) dalam Sistem Berpelarut Air. *Mesomeri 1* : 27 – 32.
- Ahmad, W., S., dan Muhiddin, H., N. 2019. Pemanfaatan Limbah Cair Sagu untuk Memproduksi Selulosa Bakteri (Utilization of Sago Liquid Waste for Bacterial Cellulose Production). *Jurnal Biologi Indonesia* 15(1) : 33 – 40.
- 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.
- Badan Standardisasi Nasional. 1996. **Standar Nasional** Indonesia Nata dalam kemasan. SNI 01-4317-1996.
- Ballén, A. B., Kuritka, I., & Saha, P. (2016). Preparation and Characterization of a Bioartificial Polymeric Material: Bilayer of Cellulose Acetate-PVA. *International Journal of Polymer Science*, 2016. <https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2016/3172545>
- 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/>. 2 Desember 2020 (16.00).
- 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.
- Chunshom, N., Chuysinuan, P., Techasakul, S., dan Ummartyotin, S.. 2018. Dried-state bacterial cellulose (*Acetobacter xylinum*) and polyvinyl-alcohol-based hydrogel : An approach to a personal care material. *Journal of Science: Advanced Materials and Devices* : 296 – 302.
- Dimaguila, L. S. 1976. The Nata de Coco Chemical Nature and Properties of nata. *The Philippines Agriculturist* : 475-484.
- Ding, S. 2006. L-Lactic Acid Production by *Lactobacillus casei* Fermentation Using Different Fed-Batch Feeding Strategies. *Process Biochemistry* : 1451-1454.
- Donini, I. A. N. 2010. Biosynthesis and recent advances in production of bacterial cellulose. *Eclética Química Journal*. 35(4) : 166–178.
- Esa, F., Tasirin, S. M. and Rahman, N. A. 2014. Overview of Bacterial Cellulose Production and Application. *Agriculture and Agricultural Science Procedia* : 113– 119.
- Firdayanti, M. 2005. Studi karakteristik Dasar Limbah Industri Tepung Aren. *Jurnal Infrastruktur dan Lingkungan Binaan* 1.
- Fu, W., Mathews, A. P. 1999. Lactic Acid Production From Lactose by *Lactobacillus plantarum*: Kinetic Model and Effects of pH, Substrate, and Oxygen. *Biochemical Engineering Journal* : 163- 170.
- Iguchi, M., dan Yamanaka S. 2000. Bacterial Cellulose A Masterpiece Of Nature's Arts. *Journal Of Material Science* : 261 –270.
- Leoangraini, U. 2012. Proses Fermentasi Fed Batch *Lactobacillus Acidophilus* Untuk Produksi Probiotik. *Journal of Refrigeration Air Conditioning and*

- Energy* : 678 – 683.
- Machado, J., G., Rachel T., A., dan Ribeiro, H.. 2016. Komagataeibacter rhaeticus as an Alternative Bacteria For Cellulose Production. *Carbohydrate Polymer*.
- Mendoza. 1961. *Philippines Foods, Their Processing and Manufacture*, Published in the Philippines by the author.
- Moniri, M., Rahim, A. R., dan Saad Z. W. 2017. Production and status of bacterial cellulose in biomedical engineering. *Nanomaterials* : 1 – 26.
- Nurchayyo. 2015. Pemanfaatan Limbah Cair Aren untuk Pupuk dengan Berbagai Starter Dekomposisi terhadap Pertumbuhan dan Hasil Jagung. *Agrosains* : 44 – 48.
- Pambayun, R. 2002. Teknologi Pengolahan Nata de Coco. *Kanisius*. Yogyakarta.
- Putriana, I., Aminah, A. 2013. Mutu Fisik, Kadar Serat dan Sifat Organoleptik
- Nadiratuzzahra, S., & Tristantini, D. (2020). Cellulose Acetate from Oil Palm Empty Fruit Bunches Waste as Biodegradable Microbeads for Making Scrubs. *AIP Conference Proceedings*, 2223, 050001. <https://doi.org/https://doi.org/10.1063/5.0005117>
- Nata de Cassava Berdasarkan Lama Fermentasi. *Jurnal Pangan dan Gizi*. 4(7): 29 – 38.
- Ramdiana. 2017. Pengaruh Variasi Komposisi pada Campuran Limbah Cair Aren dan Kotoran Sapi Terhadap Produksi Biogas. *Eksergi*.
- Serbanescu, O. S., Pandele, A. M., Miculescu, F., & Voicu, S. I. (2020). Synthesis and Characterization of Cellulose Acetate Membranes with Self-indicating Properties by Changing the Membrane Surface Color for Separation of Gd(III). *Coatings*, 10(5). <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/coatings10050468>
- Shoda, M., Sugano, Y. 2005. Recent Advances in Bacterial Cellulose Production. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* : 1 – 8.
- Singhsa, P., Narain, R., & Manuspiya, H. 2018. Physical structure variations of bacterial cellulose produced by different Komagataeibacter xylinus strains and carbon sources in static and agitated conditions. *Cellulose* : 1571–1581.
- Sitti, W., A., dan Yanti, A., N. 2019. Pemanfaatan Limbah Cair Sagu untuk Memproduksi Selulosa Bakteri (Utilization of Sago Liquid Waste for Bacterial Cellulose Production). *Jurnal Biologi Indonesia* : 33 – 39.
- Sutarminingsih, L. 2004. Peluang Usaha Nata De Coco. *Kanisius*. Yogyakarta.
- Voon, Y., W., W., Muhiadin, 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*.
- Zannini. 2005. Effect Of Process Parameters on the Production of Lactic Acid Bacteria in Batch Fermentation. *Annals of Microbiology* : 273 – 278.