

PEMANFAATAN GLISEROL DARI LIMBAH UNTUK MEMBUAT BIOPLASTIK

Rita Dwi Ratnani^{1*}, Mochamad Arif Budihardjo², Deddy Kurniawan Wikanta³, Mohammad Endi Yulianto³, Indah Hartati¹

¹Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, UNWAHAS, Jalan Menoreh Tengah X/22 Semarang, 50236

²Jurusan Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik, UNDIP, Jl.Prof.Sudharto,S.H Tembalang, Semarang 50275

³Jurusan Teknik Kimia PSD III, Fakultas Teknik, UNDIP, Jl.Prof.Sudharto,S.H Tembalang, Semarang 50275

*Email: ratnani_unwahas@yahoo.co.id

Abstrak

Salah satu upaya guna mengatasi masalah sampah plastik adalah dengan membuat plastik yang dapat terdegradasi. Plastik yang dapat terdegradasi dapat dibuat dari limbah cair industri biodiesel, yakni gliserol, dengan bantuan mikroorganisme dalam lumpur aktif. Jenis plastik yang terbentuk dalam proses ini adalah Polihidroksialkanoat (PHA). PHA dapat terdegradasi sempurna dan memiliki sifat yang mirip dengan plastik konvensional. Tujuan penelitian ini adalah merancang *sequencing batch* bioreactor sederhana dilanjutkan studi kinetika reaksi fermentasi dan pemodelan menggunakan komputasi proses. Penyusunan model dilakukan berdasarkan teori kinetika Monod dan Michaelis-Menten. Model yang dipostulasi, kemudian diturunkan untuk memperoleh persamaan yang selanjutnya diuji dan divalidasi menggunakan data eksperimen. Hasil penelitian yang diperoleh berupa alat *sequencing batch* bioreactor sederhana. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pelarut yang baik untuk proses perlakuan ekstraksi PHA adalah metanol, yaitu sebesar 0.3g/L. Hasil relatif baik diperoleh pada perendaman 2 jam dengan perolehan PHA sebesar 0,44 g/L. Model matematika Monod dan Michaelis-Menten ditentukan dengan metode algoritma genetika yang disusun dalam bentuk persamaan diferensial simultan yang diperoleh dari penurunan neraca massa dan substitusi persamaan kecepatan regenerasi/pertumbuhan sel (rg), kecepatan penurunan/kematian sel (rd) dan kecepatan konsumsi substrat untuk menjaga aktifitas sel (rsm) dan diselesaikan dengan metode Runge Kutta menggunakan bahasa pemrograman MATLAB. Konsentrasi PHA yang dihasilkan sebesar 0.3 g/L diketahui dapat menjadi penghambat pertumbuhan sel dan menurunkan kecepatan reaksi bahkan sampai menghentikan reaksi (Cp^*). Hal tersebut dikenal sebagai pengaruh *product-inhibition*. Kecepatan regenerasi meningkat seiring dengan waktu dan mulai menurun setelah 9 jam.

Kata kunci : bioplastik, polihidroksialkanoat, gliserol.

PENDAHULUAN

Salah satu upaya yang dilakukan untuk mengatasi masalah yang ditimbulkan oleh plastik adalah dengan membuat material plastik yang mudah diuraikan oleh alam. Plastik semacam ini dinamakan plastik biodegradabel. Jenis plastik ini sangat sesuai dengan siklus karbon alami, karena ketika dibuang ke lingkungan dan didegradasi oleh mikroorganisme diperoleh hasil CO_2 . Peristiwa biodegradasi dapat terjadi di semua lingkungan, baik pada kondisi aerob maupun anaerob, dan di dalam tubuh hewan. Apabila plastik biodegradabel dibakar, hasil pembakaran tersebut bukan merupakan senyawa beracun.

Polihidroksialkanoat (PHA) adalah salah satu jenis plastik biodegradabel yang termasuk dalam kelompok poliester. PHA dapat terdegradasi sempurna dan memiliki sifat yang

mirip dengan kelebihan yang dimiliki oleh plastik konvensional. Nilai tambah PHA dibandingkan dengan plastik biodegradabel lain adalah bahan bakunya selalu dapat diperbaharui (*renewable*), seperti glukosa dan asam lemak volatil. PHA dapat dihasilkan dari bermacam-macam bakteri, seperti *Alcaligenes latus*, *Pseudomonas oleovorans* dan *Escherichia coli* (Kim and Rhee, 2003). Masing-masing bakteri akan menghasilkan PHA dengan komposisi yang berbeda. Jenis substrat yang dikonsumsi oleh bakteri juga menentukan jenis PHA yang diproduksi.

Produksi PHA saat ini semakin berkembang luas karena kebutuhan plastik yang ramah lingkungan semakin meningkat. Namun demikian, pemakaian PHA sebagai material pengganti plastik konvensional dibatasi oleh harga jual yang sangat mahal. Kendala ini

berasal dari biaya produksi yang cukup tinggi, terutama biaya untuk memenuhi kebutuhan substrat dan biaya pengambilan dan pemurnian PHA dari biomassa. Untuk menekan biaya substrat dilakukan upaya pemanfaatan substrat yang selama ini terbuang, yaitu bahan-bahan organik yang terdapat dalam limbah industri (Chua dkk., 1997; Michael, 2004).

Pemanfaatan limbah industri biodisel merupakan suatu alternatif dalam memproduksi bioplastik, mengingat limbah tersebut merupakan sumber karbon yang berpotensi menghasilkan kopolimer PHA. Pengolahan limbah secara biologis ini menggunakan sistem lumpur aktif yang mengandung bermacam-macam mikroorganisme. Selain dapat menghasilkan PHA dengan biaya substrat rendah, cara ini dapat mengurangi lumpur hasil pengolahan limbah dengan sistem lumpur aktif. Kajian dalam skala laboratorium telah dilakukan dengan menggunakan substrat berasal dari limbah industri pangan dan gliserol. Hasil kajian menunjukkan bahwa fermentasi menggunakan mikroba dari lumpur aktif sangat prospektif dan menjanjikan dalam produksi plastik biodegradabel (Arifan dkk., 2005; Handayani, 2007; Achmad dkk., 2008; Budihardjo dkk., 2009).

Namun demikian, proses fermentasi dengan sistem lumpur aktif konvensional yang dilakukan memiliki kelemahan, yaitu perolehan PHA relatif masih sedikit. Kandungan PHA yang diperoleh rata-rata tertinggi sebesar 0,16 g/gsel. Oleh karenanya, perlu memodifikasi sistem lumpur aktif konvensional dengan menggunakan *sequencing batch bioreactor* (SBB). Modifikasi dengan menggunakan SBB dilengkapi dengan sistem pengaturan operasi untuk mengendalikan jalannya proses anaerobik-aerobik diharapkan mampu mengatasi kelemahan, sehingga PHA dapat terakumulasi semaksimal mungkin. Untuk itu, perlu menelaah pengembangan *sequencing batch bioreactor* untuk produksi bioplastik (*polihidroksialkanoat*) dari limbah industri biodisel dan aplikasinya pada kerajinan asesoris

METODE PENELITIAN

Penelitian tentang pembuatan *polihidroksialkanoat* melalui reaksi fermentasi limbah biodisel berupa gliserol dalam *sequencing batch bioreactor* akan diinvestigasi baik secara eksperimen maupun pemodelan. Secara skematik pelaksanaan tahapan-tahapan penelitian meliputi: Perancangan dan pabrikasi

sequencing batch bioreactor, dan Studi kinetika reaksi fermentasi limbah biodisel (gliserol) menjadi *polihidroksialkanoat*.

Perancangan dan pabrikasi *sequencing batch bioreactor* skala laboratorium dikerjakan di Workshop Teknik Mesin UNWAHAS, dengan data-data teknis perancangan diperoleh dari hasil studi awal (Budihardjo dkk., 2009). Rangkaian alat bioreaktor yang digunakan untuk proses fermentasi tersaji pada Gambar 1. Rangkaian alat ini terdiri dari bioreaktor yang dilengkapi dengan sistem aerasi, sistem pengaduk magnet, sistem pengumpanan, dan sistem pembuangan. Peralatan utama dilengkapi dengan peralatan pendukung yang berupa tangki umpan, katup-katup, dan tangki keluaran. Studi kinetika reaksi fermentasi dan komputasi proses Penelitian ini dilakukan dalam dua tahapan kerja yaitu pemodelan dan eksperimen.

Kegiatan pemodelan diawali dengan menyusun proses kinetika reaksi fermentasi yang mungkin berdasarkan kajian teoritis dan berdasarkan penelitian sebelumnya oleh (Budihardjo dkk., 2009). Penyusunan model dilakukan berdasarkan teori kinetika Monod dan Michaelis-Menten. Model yang dipostulasi, kemudian diturunkan untuk memperoleh persamaan yang diuji dan divalidasi dengan menggunakan data dari eksperimental.

Eksperimen dilakukan untuk mendapatkan data-data yang berguna dalam penentuan parameter konstanta kecepatan reaksi yang dimodelkan dalam persamaan empiris. Data-data yang telah diukur digunakan sebagai alat untuk memvalidasi postulasi yang telah ditetapkan. Pengukuran data dilakukan di Laboratorium Rekayasa Pengolahan Limbah Teknik Kimia UNWAHAS Semarang, Laboratorium Teknologi Pengolahan Limbah Teknik Lingkungan UNDIP Semarang, dan Laboratorium Rekayasa Industri Kreatif PSD III Teknik Kimia UNDIP Semarang. Dengan demikian akan diperoleh model dan persamaan empiris yang tervalidasi.

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan baku yang digunakan pada penelitian ini adalah limbah industri biodisel berupa gliserol dan bahan-bahan untuk keperluan bahan berupa analisa seperti: metanol, kloroform, kalium dikromat ($K_2Cr_2O_7$), air demin, ferro amonium sulfat (FAS), 1,10-phenanthroline monohydrate, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$,

H₂SO₄, Ag₂SO₄, dan HgSO₄. Bahan-bahan kimia ini membeli dari Bratachem Semarang. Selain itu digunakan lumpur aktif yang berasal dari limbah tekstil PT. Apac Inti di Ungaran. Gliserol diperoleh dari UKM Biodisel CV. Kebanggaan Anda, Kutoarjo, Jawa Tengah.

Peralatan utama penelitian berupa *sequencing batch bioreactor* (SBB) yang merupakan salah satu modifikasi dari sistem pengolahan limbah lumpur aktif. SBB dilengkapi dengan sistem pengaturan operasi untuk mengendalikan jalannya proses anaerobik-aerobik. Peralatan yang diperlukan untuk analisis sampel meliputi instrumen analisis dan peralatan gelas atau penunjang. Instrumen analisis berupa neraca, pH meter, oven, alat sentrifugasi, pengukur titik leleh, dan spektrofotometer ultraviolet. Sedangkan peralatan penunjangnya adalah pompa vakum, desikator, digester, kondensor, pemanas listrik, gelas kimia, labu erlenmeyer, buret, pipet volum, labu takar, gelas ukur, dan lain-lain.



Gambar 1. *Sequencing Batch Bioreaktor*

Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian dibagi menjadi dua tahap, yaitu: (1) tahap pembibitan dan aklimatisasi, dan (2) tahap percobaan utama. Pembibitan bertujuan untuk menyediakan bibit mikroorganisme yang akan dipakai dalam pengolahan limbah. Pada percobaan ini, lumpur yang digunakan berasal dari pengolahan limbah industri tekstil. Dalam penelitian ini lumpur aktif yang diambil dari PT Apac Inti mengandung bakteri *Pseudomonas oleovorans* dan *Escherichia coli*. Setelah mikroorganisme berkembang dan mencapai konsentrasi tertentu, dilakukan aklimatisasi yang bertujuan untuk menjadikan mikroorganisme dapat beradaptasi dengan lingkungan yang baru, sehingga mikroorganisme dapat berkembang biak dengan baik.

Dalam tahap percobaan utama, lumpur aktif sebanyak 1,5 liter dimasukkan ke dalam reaktor. Kemudian reaktor diisi dengan limbah biodisel (gliserol) hingga mencapai volum kerja 6 liter. Satu siklus SBB membutuhkan waktu 12 jam. Kondisi-kondisi yang diusahakan tetap adalah temperatur kamar, pH netral (pada awal operasi), dan SRT selama 5 hari. Variabel tetap lainnya adalah waktu pengendapan 2 jam dan waktu dekantasi 1 jam. Kondisi aerob dicapai dengan mengalirkan udara ke dalam reaktor hingga kelarutan oksigen sekitar 2 mg/L. Pada kondisi anaerobik, sistem pengaduk dijalankan untuk membantu sirkulasi dan mencegah pengendapan, sehingga reaksi masih dapat terus berlangsung.

Pada akhir waktu siklus, sampel diambil dan dianalisis untuk besaran-besaran MLSS, COD, TKN, dan kandungan PHA. Pengamatan ini dilakukan sampai diperoleh kondisi stabil, dimana konsentrasi MLSS dan COD efluen relatif tetap. Setelah kondisi stabil dicapai, dilakukan pengamatan setiap 2 jam selama siklus operasi SBR untuk besaran-besaran MLSS, COD, TKN, dan kandungan PHA. Pada kondisi ini pula dilakukan analisis BOD terhadap konsentrasi umpan dan efluen, untuk kondisi aerob dan anaerob pada setiap variasi percobaan. Penentuan kandungan PHA dilakukan dengan mengekstrak PHA menggunakan larutan kloroform. Percobaan utama dilakukan untuk mengamati perbedaan kandungan PHA yang dihasilkan jika waktu pengamatan dan saat dimulainya tahap aerob dan tahap *mixing* dalam satu siklus divariasikan.

Interpretasi Data

Menurut Miller and Melick (1987), untuk bioreaktor curah akan diperoleh tiga persamaan diferensial orde 1. Neraca massanya meliputi:

1. Sel

$$V \frac{dC_c}{dt} = r_g \cdot V - r_d \cdot V \quad 1)$$

$$\frac{dC_c}{dt} = r_g - r_d \quad 2)$$

2. Substrat

$$V \frac{dC_s}{dt} = Y_{sc}(-r_g) \cdot V - r_{sm} \cdot V \quad 3)$$

$$\frac{dC_s}{dt} = Ysc(-r_g) - r_{sm} \quad 4)$$

3. Produk

$$V \frac{dC_p}{dt} = Ypc(r_g) \cdot V \quad 5)$$

$$\frac{dC_p}{dt} = Ypc \cdot (r_g) \quad 6)$$

Persamaan kecepatan

$$r_g = k_{obs} \cdot \mu \cdot C_c$$

$$k_{obs} = (1 - C_p/C_p^*)^n \quad \text{pengaruh inhibitor}$$

$$\mu = \mu_{maks} \frac{C}{K_s + C_s} \quad \text{pers. Michaelis Menten}$$

persamaan ini di tulis oleh Miller and Melick (1987), Sehingga

$$r_g = \mu_{maks} \cdot (1 - C_p/C_p^*)^n \cdot \frac{C_s C_c}{K_s + C_s}$$

$$R_d = k_d \cdot C_c$$

$$r_{sm} = m \cdot C_c$$

Substitusi persamaan kecepatan ke dalam persamaan neraca massa:
Sel:

$$\frac{dC_c}{dt} = \mu_{maks} \left(1 - \frac{C_p}{C_p^*}\right)^n \cdot \frac{C_s C_c}{K_s + C_s} - k_d C_c \dots\dots (7)$$

Substrat:

$$\frac{dC_s}{dt} = Ysc \cdot \mu_{maks} \left(1 - \frac{C_p}{C_p^*}\right)^n \cdot \frac{C_s C_c}{K_s + C_s} - m \cdot C_c \dots\dots (8)$$

$$\frac{dC_s}{dt} = Ypc \cdot \mu_{maks} \left(1 - \frac{C_p}{C_p^*}\right)^n \cdot \frac{C_s C_c}{K_s + C_s} - m \cdot C_c \dots\dots (9)$$

Dari data-data yang telah diukur, digunakan sebagai input untuk membangun model dalam bentuk persamaan empiris dengan menggunakan program *Matlab*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian pendahuluan dilakukan guna mengetahui pengaruh penambahan beberapa *solvent* atau pelarut pada proses ekstraksi PHA. *Polyhydroxyalkanoate* (PHA) merupakan polyester *hydroxyalkanoate* yang terakumulasi sebagai karbon atau energi atau penurunan kekuatan penyimpanan material dalam sel-sel mikroba. PHA disintesis dan disimpan oleh berbagai bakteri pada kondisi kritis dan

terakumulasi sebagai granul-granul intraselular tanpa menimbulkan efek berbahaya bagi sel-sel induknya. PHA biasanya diproduksi sebagai polimer yang terdiri atas 103-104 monomer, yang terakumulasi dalam bentuk granul dengan diameter 0.2–0.5 μm .

Proses pemisahan partikel dengan diameter tersebut diatas dari campuran partikel-partikel mikroba seperti mikroba pembentuk PHA semakin mendapat perhatian dalam khasanah bioteknologi. Beberapa upaya dilakukan guna meningkatkan efisiensi pemisahan bioplastik, mengingat proses ekstraksi dan pemurnian PHA merupakan kunci guna meningkatkan nilai ekonomis sistem fermentasi PHA. Untuk mendapatkan perolehan PHA yang lebih baik, beberapa proses perlakuan awal dapat dilakukan sehingga dapat meningkatkan proses disrupti sel-sel mikroba.

Produktivitas PHA dapat ditingkatkan dengan penambahan pelarut seperti alkohol. Penambahan alkohol dapat berakibat menurunnya kekuatan dinding dan membran sel, sehingga proses pengeluaran PHA dari sel dapat meningkat. Alkohol juga dapat menghambat sintesis protein dan akibatnya NH_4 dalam kondisi eksis. Hal tersebut juga dapat mengakibatkan melemahnya kekuatan membran sel.

Untuk mengekstrak PHA dari biomass, sel kering harus dirusak atau dipecah. Untuk menghindari penggunaan surfaktan yang bersifat keras, basa kuat atau sodium *hypochlorite* yang dapat menyebabkan terjadinya dekomposisi polimer, kita dapat menggunakan aseton atau alkohol.

Dalam penelitian pendahuluan ini pelarut yang dicoba adalah air, metanol dan etanol. Biomass kering yang diperoleh diakhir siklus SBB direndam dalam 15 ml berbagai pelarut pada suhu ruang selama 1 jam. Sesudahnya campuran disentrifuse pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Endapan selanjutnya di ekstrak menggunakan kloroform. Proses ekstraksi dilakukan dengan merendam endapan dalam 50 ml kloroform selama 24 jam pada suhu 55°C . Sesudahnya campuran disaring dan filtratnya diambil. Sebagian kloroform diuapkan hingga volumenya berkurang 50%. Selanjutnya filtrat diinjeksikan pada air mendidih. PHA akan mengendap dan setelah didinginkan, PHA dapat diambil, dikeringkan dan ditimbang.

Tabel 1. menunjukkan data perolehan PHA pada berbagai pelarut. Hasil penelitian

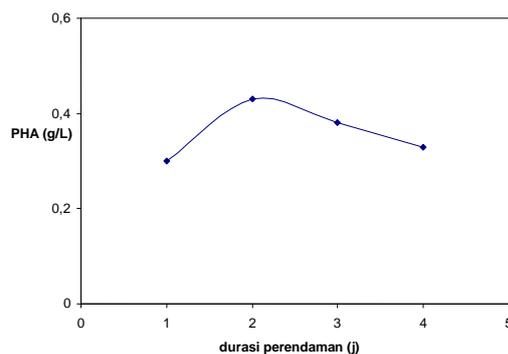
menunjukkan bahwa pelarut yang baik untuk proses perlakuan ekstraksi PHA adalah metanol, yaitu sebesar 0,3 g/L. Perolehan PHA dengan perlakuan menggunakan metanol adalah yang terbesar. Penggunaan alkohol dengan rantai yang lebih panjang menurunkan perolehan PHA. Hal tersebut mengindikasikan bahwa alkohol berantai panjang lebih sulit untuk menyusupi sel-sel biomass kering yang mengandung PHA.

Percobaan pendahuluan untuk menentukan waktu perendaman yang baik pada proses *pretreatment* biomass juga telah dilakukan. Pelarut yang digunakan adalah metanol. Pada percobaan selanjutnya, untuk proses rekoveri PHA, ditambahkan 15 ml metanol dan direndam dengan durasi perendaman divariasi dari 1-4 jam.

Tabel 1. Rekoveri PHA pada berbagai pelarut

Solvent	PHA (g/L)
Water	0,10
Ethanol	0,21
Methanol	0,30

Durasi perendaman mempengaruhi perolehan PHA. Gambar 2 menunjukkan PHA yang diperoleh, akan meningkat pada waktu perendaman 1-2 jam tetapi setelah 2 jam akan menurun. Hal ini diduga disebabkan terjadinya degradasi PHA sehingga perolehan PHA relatif sedikit. Hasil relatif baik diperoleh pada perendaman 2 jam dengan perolehan PHA sebesar 0,44 g/L. Menurut Damayanti dkk., (2003) dua hal yang diduga menjadi penyebab turunnya perolehan PHA adalah turunnya pH dan denitrifikasi. Denitrifikasi dapat terjadi pada kondisi anaerob yang cukup lama. Proses ini mengakibatkan terdegradasinya PHA yang telah terbentuk, yang digunakan sebagai substrat padat. Pemanfaatan PHA dalam peristiwa denitrifikasi dinamakan dengan denitrifikasi fasa padat (*solid-phase denitrification*). Dari penelitian yang dilakukan oleh Hiraishi and Khan (2003) diketahui bahwa diantara beberapa biopolimer yang pernah digunakan, PHA merupakan substrat padat yang paling sesuai. PHA sendiri adalah material cadangan mikroba, sehingga diharapkan mudah termetabolisasi oleh mikroorganisme denitrifikasi.



Gambar 2. Pengaruh durasi perendaman terhadap perolehan PHA

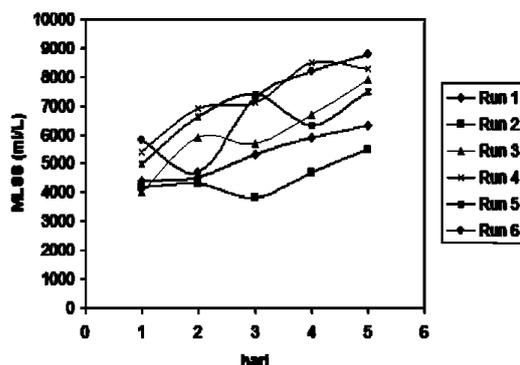
Salah satu faktor yang mempengaruhi proses denitrifikasi jenis ini adalah kristalinitas polimer. PHA yang bersifat amorf lebih mudah terdegradasi daripada PHA yang bersifat kristalin. PHA bentuk amorf berada dalam tubuh bakteri (intraseluler), sedangkan produk PHA yang telah diekstraksi (ekstraseluler) berbentuk kristalin. Faktor lain yang juga mempengaruhi efisiensi degradasi adalah kandungan hidroksivalerat (HV).

Damajanti dkk. (2003) melaporkan bahwa PHBV lebih cepat terdegradasi dibandingkan dengan PHB dalam lingkungan berair. Untuk merangsang terbentuknya PHA maka kondisi pada saat pengumpulan diatur anaerob. Hal ini dimaksudkan agar mikroorganisme lumpur aktif tidak langsung menggunakan limbah sebagai sumber karbon untuk memperbanyak sel namun diharapkan dengan kondisi anaerob akan merangsang terbentuknya PHA (Setyawaty dan Setiadi, 2005).

Pengamatan MLSS

Hasil pengamatan terhadap MLSS pada semua tempuhan disajikan pada Gambar 3. MLSS yang diperoleh pada akhir tahapan lebih tinggi dibanding MLSS pada awal proses. Pada percobaan pendahuluan terjadi penurunan MLSS, hal ini disebabkan karena mikroorganisme yang sedang melakukan adaptasi terhadap kondisi SBB. Meskipun semua kondisi dalam SBB diusahakan tetap, namun demikian kadangkala terjadi sedikit perubahan diluar kontrol. Kondisi tersebut yang menyebabkan timbulnya fluktuasi selama kondisi adaptasi mikrob, misalnya adanya perubahan voltase listrik yang menyebabkan aliran listrik ke SBB juga mengalami perubahan. MLSS ini digunakan untuk mengetahui apakah bakteri dalam lumpur aktif

itu ada atau tidak. Selain itu untuk mendapatkan nilai Ycs dan Yps



Gambar 3. Grafik hubungan MLSS terhadap waktu tempuhan

Pengamatan TKN

Pengamatan terhadap penyisihan TKN dilakukan untuk mengetahui banyaknya nitrogen yang dikonsumsi oleh mikroorganisme. Nitrogen dalam bentuk amonium merupakan bahan penyusun asam amino dan asam nukleat yang berperan dalam pembentukan sel-sel baru. Hasil pengamatan terhadap penyisihan TKN untuk masing-masing tempuhan disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2 menunjukkan bahwa pada semua tempuhan terjadi penyisihan TKN yang cukup besar. Hal ini menunjukkan terjadinya konsumsi nitrogen selama proses dalam SBB. Konsumsi nitrogen terutama terjadi pada saat kondisi anaerob. Pada kondisi ini tidak terjadi hambatan terhadap siklus TCA sehingga proses pembentukan sel berlangsung normal. Pembentukan sel-sel baru dapat berjalan apabila senyawa-senyawa pembentuk sel seperti oksaloasetat, piruvat, dan α -oksoglutarat berikatan dengan amonium pembentuk asam-asam amino dan asam nukleat yang merupakan monomer pembentuk sel melalui siklus glikosilat. Asam-asam amino kemudian berpolimerisasi membentuk protein. Polimerisasi juga akan membentuk polisakarida, lipida, dan pada akhirnya membentuk sel baru. Selama proses pembentukan sel ini berjalan lancar maka amonium yang digunakan dalam proses jumlahnya semakin banyak, sehingga penyisihan nitrogen yang terukur akan semakin besar.

Tabel 2. Persentase penyisihan TKN untuk setiap tempuhan

Tempuhan	Penyisihan (%)
1	69,87
2	63,74
3	67,19
4	73,04
5	62,74
6	60,19

Perbandingan penelitian sebelumnya

Pada penelitian ini produksi PHA dilakukan dengan menggunakan substrat gliserol dari limbah industri biodisel. Proses dilakukan dalam SBB dengan siklus pendek dan variasi perendaman pelarut antara 1-4 jam. Hasil relatif baik diperoleh pada perendaman 2 jam dengan perolehan PHA sebesar 0,44 g/g sel.

Satoh dkk. (1998) melakukan penelitian produksi PHA dengan menggunakan lumpur aktif dan limbah sintetik. Pada penelitian ini pH dikontrol pada rentang 7-8 dengan penambahan NaOH. Kandungan PHA maksimum sebesar 0,62 g/g sel dicapai dengan menggunakan proses mikroaerofilik-aerobik.

Chua and Yu (1999) juga melakukan penelitian produksi PHA dengan lumpur aktif yang diperoleh dari pengolahan limbah perkotaan. Penelitian dilakukan dalam SBR dengan menggunakan limbah sintesis berupa asam karboksilat dan keton dengan COD rata-rata 2500 mg/L. Pada penelitian ini diperoleh kandungan PHA tertinggi sebesar 0,11 g/g sel dan penurunan jumlah lumpur hingga 39%.

Penelitian Purnama (2001) dilakukan dengan menggunakan lumpur aktif dan limbah sintetik tapioka. Pada penelitian ini kandungan PHA rata-rata tertinggi sebesar 0,15 g/g sel diperoleh pada tempuhan dengan 3 jam waktu aerob dan 6 jam waktu anaerob. Titik leleh PHA yang diperoleh berada pada rentang 124-160°C dan kandungan HV berkisar antara 3-25%.

Sonjaja dkk. (2001) juga menggunakan lumpur aktif dan air limbah sintetik tapioka untuk memproduksi PHA. Pengamatan selama siklus dalam SBR pada penelitian ini menunjukkan nilai pH 4-5. Kandungan PHA rata-rata tertinggi sebesar 0,5 g/g sel diperoleh pada tempuhan dengan periode aerob-anaerob 4-5 jam dan penggunaan siklus pendek. PHA yang diperoleh mempunyai titik leleh pada

rentang 126-140°C dengan kandungan HV 13,09-22,48%.

Harimawan dan Wibawa (2002) kembali melakukan penelitian produksi PHA dengan lumpur aktif dan air limbah sintetik tapioka. Pada penelitian ini pH dijaga pada kondisi netral dengan penambahan NaOH. Hasil yang diperoleh menunjukkan kandungan PHA rata-rata tertinggi sebesar 0,403 g/g sel dengan titik leleh berada pada rentang 148-163°C dan kandungan HV berkisar 1,7-3,6%.

Damajanti dkk. (2003) mempelajari pengaruh waktu pengumpanan dan siklus pendek terhadap pembentukan PHA dengan lumpur aktif dan substrat air limbah sintetik tapioka. Pada penelitian ini periode aerob-anaerob dilakukan dengan perbandingan 5:4 jam dan pH dijaga netral pada setiap awal siklus. Hasil pengamatan menunjukkan penurunan pH selama siklus hingga nilai 3,62. Kandungan PHA rata-rata tertinggi diperoleh pada tempuhan dengan waktu pengumpanan pendek (2 jam), yaitu sebesar 0,247 g/g sel untuk tempuhan dengan siklus biasa dan 0,226 g/g sel untuk tempuhan dengan siklus pendek. Pengamatan terhadap titik leleh menunjukkan bahwa titik leleh rata-rata pada tempuhan dengan siklus pendek lebih rendah daripada siklus biasa. Titik leleh PHA pada tempuhan dengan siklus pendek berada pada rentang 108-156°C dengan kandungan HV antara 2,30-37,05%.

Pada variasi kondisi siklus yang sama kandungan PHA yang diperoleh dari penelitian ini lebih rendah daripada penelitian sebelumnya yang menggunakan limbah sintetik tapioka. Dari penelitian-penelitian yang telah dilakukan kandungan PHA tertinggi dicapai pada penelitian Satoh dkk. (1999) yang menggunakan kondisi mikroaerofilik-aerobik. Penggunaan kondisi ini mampu mendorong pertumbuhan mikroorganisme pengakumulasi PHA. Pengamatan titik leleh PHA dalam penelitian ini menunjukkan titik leleh yang lebih rendah daripada hasil penelitian Harimawan dan Wibawa (2002), yang berarti kandungan HV yang diperoleh lebih tinggi. Hasil pengamatan titik leleh dan kandungan HV pada penelitian ini menunjukkan angka yang mendekati hasil penelitian Purnama (2001), Sondjaja dkk. (2001), dan Damajanti dkk.(2003).

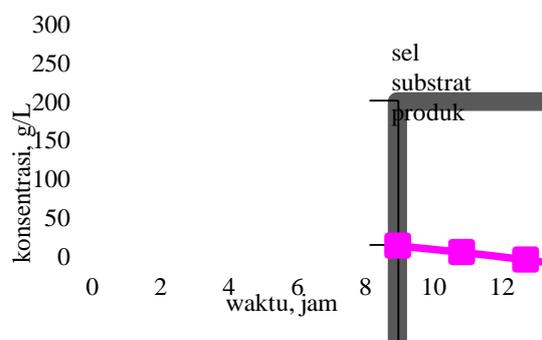
Pengamatan selama operasi dalam SBR pada penelitian Sondjaja dkk (2001) dan Damajanti dkk (2003) menunjukkan penurunan pH hingga

mencapai 4-5 meskipun pH awal siklus selalu diatur pada kondisi netral. Pada penelitian Harimawan dan Wibawa (2002) pH dijaga netral dengan penambahan NaOH, sementara pada penelitian Purnama (2001) diperoleh penurunan pH hingga 1-1,5 tingkat. Dalam penelitian ini juga terjadi penurunan pH selama siklus, tetapi penurunannya tidak tajam sehingga masih berada pada kisaran netral. Diduga dalam air limbah industri tapioka terdapat sistem buffer yang mampu mengontrol perubahan pH selama siklus sementara pada limbah sintetik sistem ini tidak ada karena terbuang bersama air limbah saat proses pembuatan tepung tapioka. Kondisi ini dapat mencegah timbulnya fungsi yang tumbuh dengan baik pada pH < 6,5. Beberapa jenis fungsi terutama dari kelompok Deuteromycota mempunyai kemampuan mendegradasi PHA (Kim and Rhee, 2003).

Model matematika

Persamaan (7), (8) dan (9) merupakan persamaan diferensial ordiner yang diselesaikan secara numerik dengan metode Runge Kutta sehingga dihasilkan konsentrasi sel, substrat dan produk terhitung sebagai fungsi dari waktu. Nilai k_d dan K_s yang cocok dengan data konsentrasi percobaan diperoleh dengan cara optimasi sedemikian rupa sehingga SSE dari data konsentrasi terhitung terhadap data konsentrasi percobaan minimum.

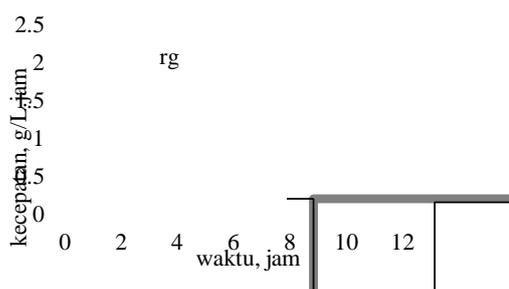
Model matematika disusun berdasarkan tinjauan proses secara simultan. Parameter model matematika ditentukan dengan metode algoritma genetika yang disusun dalam bentuk persamaan diferensial simultan dan diselesaikan menggunakan bahasa pemrograman MATLAB. Variabel yang dipelajari adalah bagaimana perubahan konsentrasi sel, substrat dan produk dengan perubahan waktu, yaitu: $C_c = f(t)$, $C_s = f(t)$ dan $C_p = f(t)$.



Gambar 4. Hubungan konsentrasi substrat, sel dan produk terhadap waktu

Metoda Runge Kutta dapat digunakan untuk menyelesaikan persamaan differensial partial, persamaan differensial orde n yang diubah kepersamaan differensial ordiner simultan. Fermentasi yang dilakukan pada SBB akan menghasilkan persamaan differensial ordiner sebanyak 3 buah, sebagai fungsi dari perubahan konsentrasi substrat (C_s), konsentrasi sel (C_c) dan konsentrasi produk (C_p) terhadap waktu (t). Percobaan yang dilakukan dengan menggunakan substrat berupa gliserol, selnya berasal dari lumpur aktif pabrik tekstil agar menghasilkan produk berupa polihidroksialkanoat. Hasil eksekusi dengan menggunakan bahasa pemrograman MATLAB tersaji pada Gambar 4 – 6.

Data-data pengukuran diperoleh dari hasil percobaan, sedangkan harga Y_{cs} dan Y_{ps} tertentu untuk tiap fermentasi diperoleh dari analisis MLSS dan perolehan PHA. Persamaan differensial diperoleh dari penurunan neraca massa dan substitusi persamaan kecepatan regenerasi/pertumbuhan sel (r_g), kecepatan penurunan/kematian sel (r_d) dan kecepatan konsumsi substrat untuk menjaga aktifitas sel (r_{sm}). Konsentrasi PHA yang dihasilkan dapat menjadi penghambat pertumbuhan sel dan menurunkan kecepatan reaksi bahkan sampai menghentikan reaksi (C_p^*) dikenal sebagai pengaruh *product-inhibition*. Lamanya waktu fermentasi sangat tergantung pada C_p^* (lihat persamaan kobs), dengan n sebesar 0,52 dan $C_p > C_p^*$ akan diperoleh konsentrasi yang imajiner.

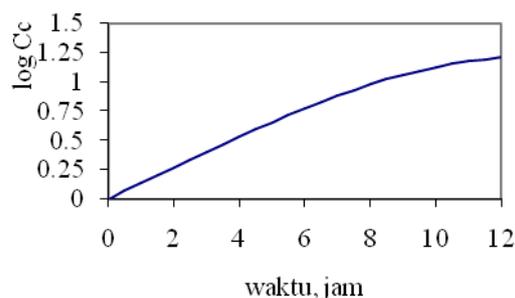


Gambar 5. Distribusi kecepatan reaksi sebagai fungsi waktu

Hasil tela'ah perhitungan numerik dengan metode *Runge Kutta*, diperoleh pertumbuhan sel yang logaritmik (*log growth phase*), adalah fase dimana sel mempunyai kecepatan pertumbuhan yang maksimal. Kecepatan regenerasi juga meningkat dan mulai menurun setelah 9 jam (Gambar 5). Sehingga bisa

ditentukan waktu yang efektif untuk melakukan fermentasi. Substrat yang dikonsumsi oleh sel (r_{sm}) juga meningkat sehingga jumlah substrat menurun tajam dan berubah menjadi produk PHA. Gambar 5 menunjukkan, penurunan konsentrasi substrat dan kenaikan jumlah produk sangat signifikan.

Metoda lain untuk penyelesaian PDB simultan adalah dengan *Runge-Kutta Gill*. Interval kestabilan RK Gill lebih besar yaitu $-2,8 < \Delta h < 0$ sedangkan RK sebesar $-2,0 < \Delta h < 0$. Tetapi Metoda *Runge-Kutta* untuk kasus ini tetap stabil. Hal ini diketahui dengan merubah besarnya interval waktu (Δt) menjadi 0,1 akan diperoleh hasil yang sama. Metode lain adalah *predictor-corrector*, dimana perhitungan suatu titik membutuhkan beberapa titik dimukanya, sedangkan RK hanya membutuhkan satu titik didepanya. *Predictor-corrector* biasanya didahului oleh RK untuk memperoleh beberapa titik dimukanya. Hasil perhitungan umumnya lebih baik dibanding *Runge-Kutta*.



Gambar 6. Perolehan PHA dalam logaritmik sebagai fungsi waktu

Sub-routine yang bisa digunakan untuk penyelesaian persamaan differensial tidak stiff dalam matlab adalah *ode23* untuk order rendah dan *ode45* untuk order medium. Oleh karenanya, banyak kemungkinan penggunaan metode numerik dan bahasa pemrograman dalam penyelesaian persamaan diferensial. Metode *Runge-Kutta* disini juga baik, terlihat dari hasil iterasi perhitungan numerik yang memiliki kecenderungan yang sama dengan percobaan.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pelarut yang baik untuk proses perlakuan ekstraksi PHA adalah metanol, yaitu sebesar 0,3g/L. Hasil relatif baik diperoleh pada perendaman 2 jam dengan perolehan PHA sebesar 0,44 g/L .

Hasil yang diperoleh lebih bagus dibandingkan penelitian oleh Damayanti, 2003 yang menyebutkan dengan waktu pengisian 2 jam didapatkan kandungan PHA terbesar, yaitu rata-rata 0,247 g/g sel untuk siklus biasa dan 0,226 g/g sel untuk siklus pendek. Model matematika ditentukan dengan metode algoritma genetika yang disusun dalam bentuk persamaan diferensial simultan dan diselesaikan dengan metode Runge Kutta menggunakan bahasa pemrograman MATLAB. Persamaan differensial diperoleh dari penurunan neraca massa dan substitusi persamaan kecepatan regenerasi/pertumbuhan sel (r_g), kecepatan penurunan/kematian sel (r_d) dan kecepatan konsumsi substrat untuk menjaga aktifitas sel (r_{sm}). Konsentrasi PHA yang dihasilkan dapat menjadi penghambat pertumbuhan sel dan menurunkan kecepatan reaksi bahkan sampai menghentikan reaksi (C_p^*) dikenal sebagai pengaruh *product-inhibition*. Kecepatan regenerasi meningkat seiring dengan waktu dan mulai menurun setelah 9 jam.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional atas dana yang diberikan dalam kegiatan Penelitian Hibah Strategis Nasional 2010.

DAFTAR NOTASI

C_c = konsentrasi sel, g/L
 C_s = konsentrasi substrat, g/L
 C_p = konsentrasi produk, g/L
 C_{ps} = C_p^* = konsentrasi produk saat metabolisme berhenti, g/L
 n = tetapan dari percobaan
 kd = tetapan penurunan jumlah sel, jam-1
 K_s = tetapan Michaelis-menten, g/L
 Y_{cs} = perbandingan massa sel terbentuk dengan massa substrat yang dikonsumsi untuk menghasilkan sel baru
 $m = \frac{\text{massa substrat untuk menjaga aktivasi sel}}{\text{massa sel.waktu}} = \frac{\text{g substrat}}{\text{g sel jam}}$
 Y_{sc} = $1/Y_{cs}$
 Y_{ps} = perbandingan produk terbentuk dengan massa substrat yang di konsumsi untuk menghasilkan produk.
 Y_{pc} = perbandingan produk terbentuk dengan massa sel terbentuk

$\mu_{maks} = \mu_{maks}$ = tetapan kecepatan pertumbuhan sel spesifik maksimum, jam-1
 r_g = kecepatan pertumbuhan sel, g/L.jam
 r_d = kecepatan penurunan sel, g/L.jam
 r_{sm} = kecepatan konsumsi substrat untuk menjaga aktifitas sel, g/L.jam
 dengan nilai batas (*initial value*):
 $t = 0$ $C_c = C_{c0}$
 $C_s = C_{s0}$
 $C_p = C_{p0} = 0$

DAFTAR PUSTAKA

- Arifan, F., Yulianto, M.E., dan Paramita, V., 2005, *Pemanfaatan Limbah Cair Industri Pangan Berbahan Baku Tepung Terigu Sebagai Plastik Biodegradable*, Laporan Penelitian P&K Jateng.
- Achmad, L.F., Handayani, D., dan Arifan, F., 2008, *Model Regresi Biokonversi Limbah Cair Industri Pangan Menjadi Plastik Biodegradable (Polihidroksialkanoat) Dengan Menggunakan Lumpur Aktif*, Laporan Fundamental DIKTI.
- Budihardjo, M.A., Handayani, D., dan Arifan, F., 2009, *Pengembangan Sequencing Batch Bioreactor Untuk Produksi Plastik Biodegradable (Polihidroksialkanoat) dari Limbah Cair Industri Tapioka*, Laporan Hibah Bersaing DP2M.
- Chua, H., Yu, P.H.F., and Ho, L.Y., 1997, Coupling of Wastewater Treatment with Storage Polymer Production, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **63**, hal. 627-635.
- Chua, H., and Yu, P.H.F., 1999, Production of Biodegradable Plastics from Chemical Wastewater – A Novel Method to Reduce Excess Activated Sludge Generated from Industrial Wastewater Treatment, *Wat. Sci. Tech.*, **39**(10-11), p. 273-280.
- Damajanti, Neni, dan Setiadi T., 2003, Pengaruh Durasi Tahap Pengisian dan Siklus Pendek dalam *Sequencing Batch Reactor* (SBR) terhadap Pembentukan Polihidroksialkanoat (PHA), *Seminar Nasional Perkembangan dan Aplikasi Teknologi Lingkungan dalam Menghadapi Era Global*, ITS, Surabaya
- Handayani, D., 2007, *Pemanfaatan Limbah Cair Industri Pangan Berbahan Baku Tepung Terigu Sebagai Plastik Biodegradable*, laporan PKM.
- Harimawan A. dan Wibawa, K. S., 2002, Laporan Penelitian: *Produksi Polihidroksialkanoat dari Air Limbah*

- Sintetik dengan Sequencing Batch Reactor*. Departemen Teknik Kimia ITB.
- Hiraishi, A., and Khan, S.T., 2003, Application of Polyhydroxyalkanoates for Denitrification in Water and Wastewater Treatment, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 61, p. 103-109.
- Kim, D.Y., and Rhee, Y.H., 2003, Biodegradation of Microbial and Synthetic Polyesters by Fungi, *Appl Microbiol Biotechnol*, 61, p. 300-308
- Miller, R. and Melick, M., 1987, Partial Source: Modelling, *Bioreactor Chemical Engineering*, feb.16 p.113 (1987)
- Michael, D., 2004, *Bioplastic supply Chains-Implication And Oppurtunities for Agriculture*, A report for the rural Industries Research and Development Corporation, Australian Government, p. 143-145.
- Purnama, H., 2001, *Kajian Awal Pembentukan Polihidroksialkanoat (PHA) pada Sistem Pengolah Limbah Lumpur Aktif dengan Sequencing Batch Reactor (SBR)*, Tesis Magister, Program Studi Teknik Kimia, Institut Teknologi Bandung.
- Setyawaty R. dan Setiadi T., 2005, Produksi Polihidroksialkanoat Dari Air Limbah Industri Tapioka :Uji Konsistensi Produk Dan Perbaikan Proses Pengambilan PHA, *Prosiding Seminar Nasional Rekayasa Kimia Dan Proses*, hal C.1-10, Bandung.
- Satoh, H., Mino, T., and Matsuo, T., 1999, PHA Production by Activated Sludge, *Intl. Journal. of Biological Macromolecules*, 25, hal. 105-109.
- Satoh, H., Iwamoto, Y., Mino, T., and Matsuo, T., 1998, Activated Sludge as a Possible Source of Biodegradable Plastic, *Wat. Sci. Tech.*, 38(2), hal. 103-109.
- Sondjaja, Heryanto, R, Veriansyah, B. dan Setiadi T., 2001, Production of Polihidroksialkanoat (Biodegradable Plastic) from Synthetic Wastewater Using Sequencing Batch Reactor. *Prosiding Regional Symposium on Chemical Engineering*, 29 - 31 Oktober 2001, Bandung.