



**SKRIPSI – TK141581**

**“PERANAN MIKROORGANISME PADA  
*PRETREATMENT* KULIT KOPI SEBAGAI  
BAHAN BAKU PEMBUATAN BIOGAS”**

**Oleh :**

**Vivi Alvionita Sari  
NRP. 2314 106 013**

**Desy Arista  
NRP. 2314 106 014**

**Dosen Pembimbing :**

**Dr. Ir. Sri Rachmania Juliastuti, M.Eng.  
NIP. 19590730 198603 2 001**

**Ir. Nuniek Hendriane, M.T.  
NIP. 19571111 118601 2 001**

**DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA  
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA 2017**



**FINAL PROJECT – TK141581**

**THE ROLE OF MICROORGANISM ON  
COFFEE PULP PRETREATMENT AS RAW  
MATERIAL FOR THE PRODUCTION OF  
BIOGAS**

**By :**

**Vivi Alvionita Sari  
NRP. 2314 106 013**

**Desy Arista  
NRP. 2314 106 014**

**Advisor :**

**Dr. Ir. Sri Rachmania Juliastuti, M.Eng.  
NIP. 19590730 198603 2 001**

**Ir. Nuniek Hendrianie, M.T.  
NIP. 19571111 118601 2 001**

**CHEMICAL ENGINEERING DEPARTEMENT  
FACULTY OF INDUSTRIAL TECHNOLOGY  
SEPULUH NOPEMBER INSTITUT OF TECHNOLOGY  
SURABAYA 2017**

# LEMBAR PENGESAHAN

## Peranan Mikroorganisme Pada *Pretreatment* Kulit Kopi Sebagai Bahan Baku Pembuatan Biogas

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar Sarjana Teknik pada Program Studi S-1 Departemen Teknik Kimia Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya

Oleh :

**Vivi Alvionita Sari** (2314106013)

**Desy Arista** (2314106014)

Disetujui oleh Tim Penguji Tugas Akhir:

1. Dr.Ir.Sri Rachmania Juliastuti, M.Eng. .... (Pembimbing 1)

2. Ir. Nuniek Hendrianie, M.T. .... (Pembimbing 2)

3. Prof. Dr. Ir. Ali Altway, MSc ..... (Penguji 1)

4. Fadlilatul Taufany, S.T., Ph.D ..... (Penguji 2)

5. Prida Novarita, S.T., M.T. .... (Penguji 3)



Surabaya,  
Januari 2017

# **Peranan Mikroorganisme Pada *Pretreatment* Kulit Kopi Sebagai Bahan Baku Pembuatan Biogas**

## **Abstrak**

Kulit kopi merupakan salah satu limbah dari industri pengolahan biji kopi yang dihasilkan selama proses produksi. Kulit kopi mengandung beberapa komponen, antara lain selulosa 57.9%, hemiselulosa 21.63%, lignin 5.21%, pektin 2.28%, dan zat inhibitor seperti tannin 4.81%, kafein 0.86%, polifenol 3.48%. Kandungan selulosa yang tinggi menyebabkan kulit kopi dapat digunakan untuk bahan baku alternative dalam pembuatan biogas. Namun, kulit kopi mengandung beberapa zat inhibitor, seperti kafein, tannin dan polifenol yang dapat menghambat produksi biogas. Untuk itu perlu dilakukan *pretreatment* secara biologi menggunakan campuran mikroorganisme antara lain *Pseudomonas putida*, *Trichoderma harzianum*, dan *Aspergillus niger*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui komposisi campuran mikroorganisme yang terbaik pada *pretreatment* limbah kulit kopi untuk mendegradasi zat inhibitor. Hasil terbaik nantinya akan diaplikasikan pada pembuatan biogas. Ada 2 tahapan utama dalam penelitian ini. Tahap pertama dilakukan *pretreatment* terhadap kulit kopi secara biologi dengan variabel *Pseudomonas putida* : *Trichoderma harzianum* : *Aspergillus niger* dengan perbandingan 1:1:1 , 1:2:1 , 1:1:2 , 1:2:2 , 2:1:1 , 2:2:1 , 2:1:1 (v:v:v). Tahap kedua adalah fermentasi anaerob dari substrat kulit kopi hasil *pretreatment* terbaik selama 20 hari dengan suhu mesofilik (30 – 40°C) dan pH 6-7 pada volume kerja 4.5 L. Pada pembuatan biogas digunakan variabel starter sebanyak 10% dari total feed dan dimasukkan kedalam reaktor berupa campuran kotoran sapi : cairan rumen dengan rasio 1:0 , 0:1 , 1:1 , 1:2 , 2:1 (w/v). Starter dibuat dengan mengencerkan cairan rumen atau kotoran sapi dengan 2 L air. Starter terlebih

dahulu difermentasi selama 5 hari sebelum dimasukkan ke dalam reaktor. Feed dibuat dengan mencampurkan kulit kopi hasil *pretreatment* terbaik dan air dengan rasio 1:3 (w/v). Adapun parameter yang diukur antara lain penurunan zat inhibitor, *Total Solid* (TS) dan *Volatile Solid* (VS), *Chemical Oxygen Demand* (COD), Biogas (CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub>) dan nilai kalor pembakaran (*Heating Value*).

Dari hasil penelitian ini didapatkan data bahwa *pretreatment* dengan menggunakan campuran mikroorganisme dengan perbandingan *Pseudomonas putida* : *Trichoderma harzianum* : *Aspergillus niger* 1:2:1 (v:v:v) merupakan hasil *pretreatment* hasil terbaik yang dapat menurunkan 99% kadar zat inhibitor pada kulit kopi. Sedangkan untuk biogas, campuran antara kotoran sapi, cairan rumen dan substrat hasil *pretreatment* yang dapat menghasilkan gas metana lebih tinggi adalah dengan perbandingan kotoran sapi : cairan rumen 1:2 (w/v) dengan konsentrasi gas metana yang terbentuk sebesar 1.825% dan konsentrasi CO<sub>2</sub> sebesar 3.501%. Pada konsentrasi gas metana 1.825%, nilai pembakaran (*heating value*) yang didapatkan sebesar 76.032 kcal/kg dengan volume biogas 0.0032 m<sup>3</sup>/kg COD yang terkonversi.

Kata Kunci : Biogas, Limbah kulit kopi, Kafein, Tanin, Polifenol, Metana, *Pseudomonas putida*, *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus niger*, Cairan rumen, Kotoran sapi.

# The Role Of Microorganism on Coffee Pulp Pretreatment as Raw Material for The Production of Biogas

## ABSTRACT

Coffee pulp is one of the industrial waste from processing coffee beans. Coffee pulp waste composition compared of 57.9% cellulose, 21.63% hemicellulose, 5.21% lignin, 2.28% pectin and inhibitor substance such as 0.86% caffeine, 4.81% tannin, 3.48% polyphenol. High cellulose compound which causes the coffee pulp can be used for alternative raw materials in the manufacture of biogas. However, coffee pulp contain several substance inhibitor, such as caffeine, tannins, and polyphenols which can inhibit the production of biogas. It is necessary for the biological pretreatment using a mixture of microorganism include *Pseudomonas putida*, *Trichoderma harzianum*, and *Aspergillus niger*.

This study aims to determine the composition of the mixture of microorganisms of the *Pseudomonas putida*, *Trichoderma harzianum*, and *Aspergillus niger* best in coffee pulp pretreatment to degrade inhibitor substance. The best result of pretreatment will be applied to biogas production. There are two step in this study. First step is doing pretreatment of the coffee pulp with variable *Pseudomonas putida* : *Trichoderma harzianum* : *Aspergillus niger* with a ratio of 1:1:1 , 1:2:1 , 1:1:2 , 1:2:2 , 2:1:1 , 2:1:2 , 2:1:1 (v:v:v), then select variables were most excellent in degrading inhibitor substance. Then the second step, doing anaerobic fermentation for 20 days at mesophilic temperature (30-40°C) and the pH is maintained from 6 to 7 on a reactor working volume of 4.5 L. In making biogas used variables starter as much as 10% of the total feed and put into the reactor in the form of a mixture of cow dung : rumen fluid with a ratio of 1:0 , 0:1 , 1:1 , 1:2 , 2:1 (w/v). Starter was prepared by diluting

rumen fluid or cow dung with water as much as 2 liters. Starter was fermented for 5 days before being fed into the reactor. Feed is made by mixing coffee pulp best result pretreatment and water in ratio 1:3 (w/v). Parameters measured include decrease inhibitor substance, total solid (TS) and volatile solid (VS), Chemical Oxygen Demand (COD), biogas (CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub>) and calorific value of combustion (Heating value).

The results of this study that pretreatment with a mixture of microorganisms with a ratio of *Pseudomonas putida* : *Trichoderma harzianum* : *Aspergillus niger* is 1:2:1 (v:v:v) is the result of pretreatment best results that can decrease to 99% of inhibitor substance in coffee pulp. For biogas, a mixture of cow dung, rumen fluid and substrate from best result pretreatment that can produce higher methane gas is the ratio of cow dung : rumen fluid is 1:2 (w/v) with the concentration of methane (CH<sub>4</sub>) formed at 1.825% and CO<sub>2</sub> concentration of 3.501%. At the concentration of methane is 1.825%, heating value obtained 76.032 kcal/kg with volume biogas 0.0032 m<sup>3</sup>/ kg converted of COD

Key words : Biogas, Waste of skin coffee, Caffeine, Tannins, Polyphenol, Methane, *Pseudomonas putida*, *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus niger*, Rumen liquids, Cow dung.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah Subhanahu Wa Ta'ala yang telah memberikan kekuatan sehingga kami dapat melaksanakan penelitian yang berjudul **“Peranan Mikroorganisme Pada *Pretreatment* Kulit Kopi Sebagai Bahan Baku Pembuatan Biogas”** dan menyelesaikan laporan ini tepat pada waktunya. Laporan ini merupakan syarat kelulusan bagi mahasiswa tahap sarjana di Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS Surabaya.

Selama penyusunan laporan ini, kami banyak sekali mendapat bimbingan, dorongan, serta bantuan dari banyak pihak. Untuk itu, kami ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Ibu Dr. Ir. Sri Rachmania Juliastuti, M.Eng, selaku Dosen Pembimbing I dan Kepala Laboratorium Pengolahan Limbah Cair Industri, atas bimbingan dan saran yang telah diberikan.
2. Ibu Ir. Nuniek Hendrianie M.T selaku Dosen Pembimbing II atas bimbingan dan saran yang telah diberikan.
3. Bapak Prof. Dr. Ir. Ali Altway, M.Sc. selaku Dosen Penguji I atas saran yang telah diberikan.
4. Bapak Fadlilatul Taufany, S.T., Ph.D. selaku Dosen Penguji II atas saran yang telah diberikan.
5. Ibu Prida Novarita, S.T. M.T selaku Dosen Penguji III atas saran yang telah diberikan.
6. Bapak Juwari, ST., M.Eng., Ph.D selaku Ketua Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS Surabaya.
7. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS yang telah memberikan ilmunya kepada penulis

8. Ayah dan Ibu kami tercinta, saudara-saudara, serta keluarga besar atas bimbingan, doa, perhatian serta dukungannya baik moril maupun materi yang selalu tercurah selama ini.
9. Teman-teman Limbah Crew khususnya Pak Abubakar, serta teman – teman angkatan Lintas Jalur Genap Teknik Kimia 2014 FTI-ITS atas doa, bantuan, perhatian, dan dukungannya selama ini.
10. Semua pihak yang membantu pengerjaan laporan skripsi ini.

Kami menyadari bahwa laporan ini masih banyak kekurangan, sehingga saran dan kritik yang membangun dari pembaca sangat kami perlukan. Semoga laporan skripsi kami dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Surabaya, Januari 2017

Penyusun

## DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	
ABSTRAK .....	i
ABSTRACT .....	iii
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	vii
DAFTAR TABEL .....	x
BAB I PENDAHULUAN .....	1
I.1 Latar Belakang .....	1
I.2 Rumusan Masalah .....	3
I.3 Tujuan Penelitian.....	3
I.4 Manfaat Penelitian.....	4
I.5 Batasan Masalah.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
II.1 Kulit Kopi .....	5
II.2 Kandungan Kulit Kopi.....	7
II.2.1 Selulosa .....	7
II.2.2 Hemiselulosa .....	7
II.2.3 Lignin .....	8
II.2.4 Tanin.....	9
II.2.5 Kafein.....	9
II.2.6 Pektin.....	10
II.3 Proses Pretreatment Zat Inhibitor Kulit Kopi dengan Mikroorganisme .....	11
II.3.1 Degradasi Kafein Menggunakan Mikroorganisme.....	11
II.3.1.1 <i>Pseudomonas putida</i> .....	11
II.3.1.2 Sistematika Mikroorganisme Dalam Proses Degradasi Kafein .....	12
II.3.2 Degradasi Tanin Menggunakan Mikroorganisme.....	13
II.3.2.1 <i>Trichoderma harzianum</i> .....	13

II.3.2.2	Sistematika Mikroorganisme Dalam Proses Degradasi Tannin .	15
II.3.3	Degradasi Polyphenol Menggunakan Mikroorganisme.....	17
II.3.3.1	<i>Aspergillus niger</i> .....	17
II.3.3.2	Sistematika Mikroorganisme Dalam Proses Degradasi Phenol .	18
II.4	Biogas .....	19
II.4.1	Proses Fermentasi Pada Pembuatan Biogas .....	20
II.4.2	Cairan Rumen .....	23
II.4.3	Kotoran Sapi .....	24
II.5	Faktor Yang Berpengaruh Dalam Proses Anaerobik Dalam Pembuatan Biogas .....	27
II.6	Hasil Penelitian Sebelumnya .....	29
BAB III	METODOLOGI PENELITIAN .....	31
III.1	Tempat Penelitian .....	31
III.2	Bahan dan Alat .....	31
III.2.1	Bahan .....	31
III.2.2	Alat .....	31
III.3	Variabel Penelitian dan Kondisi Operasi .	32
III.3.1	Variabel Penelitian.....	32
III.3.2	Kondisi Operasi .....	33
III.4	Tahapan Prosedur Penelitian.....	34
III.4.1	Prosedur Penelitian .....	35
III.5	Metode Analisa .....	38
III.5.1	Analisa Kandungan Biogas.....	38
III.5.2	Analisa Total Solid (TS) dan Volatile Solid (VS) .....	38
III.5.2.1	Analisa Total Solid (TS) .....	38
III.5.2.2	Analisa Abu dan Volatile Solid (VS).....	39
III.5.3	Analisa BOD .....	39
BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....	41

IV.1 Pretreatment Kulit Kopi.....	41
IV.2 Pembuatan Biogas.....	57
IV.2.1 Hubungan MLSS dan MLVSS dengan Waktu Fermentasi Anaerobik Pada Berbagai Variabel Dalam Reaktor Biogas	58
IV.2.2 Hubungan Nilai COD dan Produksi Biogas Terhadap Waktu Fermentasi Anaerobik Pada Berbagai Variabel Dalam Reaktor Biogas .....	60
IV.2.3 Analisa Biogas (CH <sub>4</sub> dan CO <sub>2</sub> ) .....	63
IV.2.4 Heating Value Biogas .....	66
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	68
V.1 Kesimpulan .....	68
V.2 Saran .....	69
DAFTAR PUSTAKA .....	70
APPENDIX A .....	73

(Halaman ini sengaja dikosongkan)

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 2.1</b>	Gambar Struktur Kopi .....	6
<b>Gambar 2.2</b>	Struktur Molekul Selulosa .....	7
<b>Gambar 2.3</b>	Struktur Molekul Hemiselulosa .....	8
<b>Gambar 2.4</b>	Struktur Molekul Lignin .....	8
<b>Gambar 2.5</b>	Struktur Molekul Tanin .....	9
<b>Gambar 2.6</b>	Struktur Molekul Kafein .....	10
<b>Gambar 2.7</b>	Struktur Molekul Pektin .....	11
<b>Gambar 2.8</b>	Bakteri <i>Pseudomonas putida</i> .....	12
<b>Gambar 2.9</b>	Mekanisme Degradasi Kafein .....	12
<b>Gambar 2.10</b>	Fungi <i>Trichoderma harzianum</i> .....	14
<b>Gambar 2.11</b>	Mekanisme Degradasi Tannin .....	15
<b>Gambar 2.12</b>	Fungi <i>Aspergillus niger</i> .....	18
<b>Gambar 3.1</b>	Diagram Alir Penelitian .....	34
<b>Gambar 3.2</b>	Skema Alat Pretreatment Kulit Kopi ...	36
<b>Gambar 3.3</b>	Skema Peralatan Pembuatan Biogas ...	37
<b>Gambar 4.1</b>	Hubungan antara kadar zat inhibitor dan kenaikan konsnetrasi sel terhadap waktu pada rasio <i>P.putida</i> : <i>T.harzianum</i> : <i>A.niger</i> = 1:1:2 .....	42
<b>Gambar 4.2</b>	Perbesaran grafik 4.1 skala range 0.01 – 0.2 % .....	43
<b>Gambar 4.3</b>	Hubungan antara kadar zat inhibitor dan kenaikan konsnetrasi sel terhadap waktu pada rasio <i>P.putida</i> : <i>T.harzianum</i> : <i>A.niger</i> = 1:2:2 .....	44
<b>Gambar 4.4</b>	Perbesaran grafik 4.3 skala range 0.01 – 0.2 % .....	44
<b>Gambar 4.5</b>	Hubungan antara kadar zat inhibitor dan kenaikan konsnetrasi sel terhadap waktu pada rasio <i>P.putida</i> : <i>T.harzianum</i> : <i>A.niger</i> = 1:2:1 .....	45
<b>Gambar 4.6</b>	Perbesaran grafik 4.5 skala range 0.01 – 0.2 % .....	46

<b>Gambar 4.7</b>	Hubungan antara kadar zat inhibitor dan kenaikan konsnetrasi sel terhadap waktu pada rasio <i>P.putida</i> : <i>T.harzianum</i> : <i>A.niger</i> = 1:1:1 .....	47
<b>Gambar 4.8</b>	Perbesaran grafik 4.7 skala range 0.01 – 0.2 % .....	47
<b>Gambar 4.9</b>	Hubungan antara kadar zat inhibitor dan kenaikan konsnetrasi sel terhadap waktu pada rasio <i>P.putida</i> : <i>T.harzianum</i> : <i>A.niger</i> = 2:1:1 .....	48
<b>Gambar 4.10</b>	Perbesaran grafik 4.9 skala range 0.01 – 0.2 % .....	49
<b>Gambar 4.11</b>	Hubungan antara kadar zat inhibitor dan kenaikan konsnetrasi sel terhadap waktu pada rasio <i>P.putida</i> : <i>T.harzianum</i> : <i>A.niger</i> = 2:2:1 .....	50
<b>Gambar 4.12</b>	Perbesaran grafik 4.11 skala range 0.01 – 0.2 % .....	50
<b>Gambar 4.13</b>	Hubungan antara kadar zat inhibitor dan kenaikan konsnetrasi sel terhadap waktu pada rasio <i>P.putida</i> : <i>T.harzianum</i> : <i>A.niger</i> = 2:1:2 .....	51
<b>Gambar 4.14</b>	Perbesaran grafik 4.13 skala range 0.01 – 0.2 % .....	52
<b>Gambar 4.15</b>	Hasil penurunan kadar kafein (%) pada berbagai ratio penambahan <i>P.putida</i> : <i>T.harzianum</i> : <i>A.niger</i> .....	53
<b>Gambar 4.16</b>	Hasil penurunan kadar tanin (%) pada berbagai ratio penambahan <i>P.putida</i> : <i>T.harzianum</i> : <i>A.niger</i> .....	54
<b>Gambar 4.17</b>	Hasil penurunan kadar polifenol (%) pada berbagai ratio penambahan <i>P.putida</i> : <i>T.harzianum</i> : <i>A.niger</i> .....	55

<b>Gambar 4.18</b>	Hubungan antara penurunan BOD dan kenaikan konsentrasi sel terhadap waktu .....	56
<b>Gambar 4.19</b>	Kadar selulosa pada berbagai variabel pada hari ke-0 dan hari ke-7 .....	57
<b>Gambar 4.20</b>	Hubungan MLSS terhadap waktu fermentasi anaerobic pada berbagai rasio KS (Kotoran sapi) : CR (Cairan rumen).....	58
<b>Gambar 4.21</b>	Hubungan MLVSS terhadap waktu fermentasi anaerobic pada berbagai rasio KS (Kotoran sapi) : CR (Cairan rumen).....	59
<b>Gambar 4.22</b>	Hubungan antara perubahan nilai COD (%) pada berbagai ratio KS (Kotoran sapi) : CR (Cairan rumen) terhadap waktu (hari).....	61
<b>Gambar 4.23</b>	Hubungan antara penurunan COD (%) dan konsentrasi CH <sub>4</sub> (%) yang terbentuk terhadap waktu fermentasi (hari) .....	62
<b>Gambar 4.24</b>	Hubungan antara kenaikan konsentrasi CH <sub>4</sub> (%) terhadap waktu fermentasi (hari) .....	63
<b>Gambar 4.25</b>	Hubungan volume akumulasi biogas terhadap waktu (hari) pada berbagai ratio penambahan KS (Kotoran sapi) : CR (Cairan rumen) .....	65

(Halaman sengaja di kosongkan)

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 2.1</b>	Kandungan Kulit Kopi.....	6
<b>Tabel 2.2</b>	Komposisi Standart Biogas.....	20
<b>Tabel 2.3</b>	Komposisi Mikroorganisme Cairan Rumen.....	23
<b>Tabel 2.4</b>	Bakteri Utama Pada Cairan Rumen.....	24
<b>Tabel 2.5</b>	Bakteri Yang Terdapat Pada Kotoran Sapi .....	25
<b>Tabel 2.6</b>	Hasil Penelitian Sebelumnya .....	29
<b>Tabel 4.1</b>	Hasil Analisa Komposisi Kulit Kopi ...	41
<b>Tabel 4.2</b>	Nilai Heating Value Pada Berbagai Variabel Dalam Reaktor Biogas .....	67

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kulit kopi merupakan salah satu limbah dari industri kopi yang dihasilkan selama proses produksi dari buah kopi untuk mendapatkan biji kopi. Menurut Corro, 2013 kulit kopi pada berat kering mengandung beberapa komponen, antara lain selulosa (63%), lignin (17%), protein (11.5%), hemiselulosa (2.3%), tannin (1.8-8.56%), kafein (1.6%) dan komponen organik lainnya. Jika dilihat pada komposisi kulit kopi, maka sangat memungkinkan untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan biogas. Tetapi, ada beberapa zat inhibitor yang dapat menghambat produksi biogas, seperti kafein, tannin, dan polifenol (Corro, et al, 2013). Sehingga, perlu dilakukan *pretreatment* pada kulit kopi agar tidak mengganggu saat pembuatan biogas.

Kandungan material racun seperti kafein, tannin dan polifenol yang terkandung di dalam kulit kopi dapat didegradasi dengan bantuan mikroorganisme (Corro, 2013). Kemampuan bakteri pendegradasi zat inhibitor melibatkan peran enzim dalam mikroorganisme untuk memecah zat inhibitor tersebut. Pendegradasian zat inhibitor dalam kulit kopi menyebabkan mikroorganisme dapat mengubah selulosa dalam kulit kopi menjadi biogas.

Dalam penelitian sebelumnya, *pretreatment* dilakukan secara kimiawi dengan menggunakan bahan kimia seperti etanol dan natrium hidroksida. *Pretreatment* secara kimiawi lebih digunakan untuk memecah lignin sehingga dapat memunculkan selulosa dalam kulit kopi (Indira, 2015). Kekurangan dari penggunaan *pretreatment* secara kimiawi adalah bahan kimia yang dibutuhkan mahal dan senyawa kimia yang ditambahkan dapat menghasilkan senyawa toksik (Illeana, 2014). Selain itu, *pretreatment* secara kimiawi dapat menyebabkan kerusakan

lingkungan karena penggunaan bahan kimia yang dapat menghasilkan toksik bagi lingkungan.

Untuk *pretreatment* secara biologis, penelitian sebelumnya juga menggunakan mikroorganisme untuk mendegradasi zat inhibitor pada kulit kopi. Beberapa mikroorganisme mempunyai kemampuan untuk tumbuh pada zat inhibitor dan mengubahnya menjadi komponen-komponen yang tidak beracun (Sundar-Raj & Dhala, 1965). *Pretreatment* biologis sangat ramah lingkungan karena tidak menggunakan bahan berbahaya seperti bahan kimia yang akan berdampak buruk bagi lingkungan.

Menurut Salihu, dkk, 2014, pada penelitiannya dalam mendegradasi kafein dengan menggunakan bakteri *Klebsiella*, *Serratia marcescens*, dan kelompok *Pseudomonas*, didapatkan presentase degradasi kafein terbesar pada bakteri *Klebsiella* dengan persen degradasi sebesar 100% dalam 10 jam. Pada bakteri *Pseudomonas putida* presentase degradasi kafein sebesar 67,2 % dalam waktu 48 jam. Untuk mikroba pendegradasi tannin, dapat didegradasi menggunakan beberapa mikroorganisme, namun spesies fungi lebih spesifik dalam mendegradasi tannin. Spesies jamur tersebut antara lain : *Chaetomium*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Cylindrocarpon*, dan *Trichoderma harzianum*. (Tej. K. Bath, 1998). Pada penelitian Garcia et al, 2000, fungi yang dapat mendegradasi phenol antara lain : *Aspergillus*, *Fusarium*, *Coprinus*, *Penicillium*. Untuk *Aspergillus niger*, laju degradasi phenol sebesar 8 mg/L/h.

Dapat dilihat pada penelitan sebelumnya, bahwa *Pseudomonas putida*, *Trichoderma harzianum*, dan *Aspergillus niger* mempunyai kemampuan spesifik dalam mendegradasi masing-masing zat inhibitor. Sehingga dipihlah ketiga mikroorganisme tersebut untuk mendegradasi zat inhibitor sebagai variabel dalam mendegradasi zat inhibitor.

Dalam penelitian ini, akan digunakan metode *pretreatment* secara biologis dengan berbagai variabel, dan dipilih yang paling optimum dalam mendegradasi zat inhibitor, dan selanjutnya diaplikasikan dalam pembuatan biogas.

## 1.2 Rumusan Masalah

Dari uraian latar belakang diatas, maka dapat dirumuskan permasalahan pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Limbah kulit kopi mengandung zat inhibitor yaitu, kafein, tannin, dan polifenol yang menghambat proses pendegradasian selulosa menjadi biogas (Corro et al, 2013). Dengan adanya *pretreatment* secara biologis ini, diharapkan mengetahui keoptimalan mikroorganisme dalam mendegradasi komponen tersebut.
2. Hasil pendegradasian menggunakan mikroorganisme yang terbaik pada *pretreatment* limbah kulit kopi belum diaplikasikan dalam pembuatan biogas, sehingga perlu dilakukan pengujian dalam pembuatan biogas yang sesuai dengan standart baku mutu.

## 1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang disampaikan diatas, maka tujuan penelitian sebagai berikut :

1. Mengetahui komposisi campuran mikroorganisme *Pseudomonas putida*, *Trichoderma harzianum*, dan *Aspergillus niger* yang terbaik pada *pretreatment* limbah kopi untuk mendegradasi kafein, tannin dan polyphenol.
2. Mengetahui kualitas biogas dari komposisi mikroorganisme yang terbaik pada *pretreatment* yang dilakukan.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut

1. Pemanfaatan limbah kopi sebagai salah satu sumber bahan baku yang tidak terpakai dalam pembuatan biogas, sehingga dapat meningkatkan nilai guna dari limbah kopi.
2. Memberikan alternatif lain dalam hal mendegradasi zat inhibitor dalam kulit kopi dengan metode *pretreatment* secara biologis.

#### **1.5 Batasan Masalah**

Agar penelitian ini tidak menyimpang dari ketentuan yang digariskan, maka diambil batasan dan asumsi sebagai berikut :

1. Bahan baku yang digunakan adalah limbah kulit kopi
2. Pretreatment limbah kulit kopi dilakukan secara biologi dengan menggunakan mikroorganisme.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **II.1 Kulit Kopi**

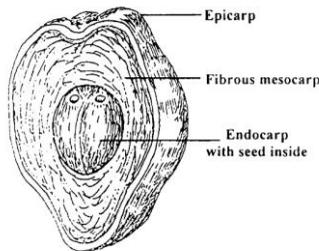
Bahan baku yang digunakan adalah limbah kulit kopi. Limbah kulit kopi yang diperoleh dari proses pengolahan kopi dari biji utuh menjadi kopi bubuk. Limbah kopi sebagian besar dimanfaatkan sebagai pupuk pada tanaman kopi dan tanaman disekitarnya, sebagian kecil digunakan sebagai media budidaya jamur serta dimanfaatkan sebagai bahan jamu tradisional (Budiman, 2010).

Proses pengolahan kopi ada 2 macam, yaitu pengolahan kopi merah/masak dan pengolahan kopi hijau/mentah. Pengolahan kopi merah diawali dengan pencucian dan perendaman serta pengupasan kulit luar, proses ini menghasilkan 65% biji kopi dan 35% limbah kulit kopi. Biji kopi lalu dikeringkan dengan oven atau pengeringan matahari langsung. Hasil biji kopi kering oven sekitar 31 persen dan akan digiling untuk menghasilkan kopi bubuk 21 persen, Sedangkan 10 persennya lagi berupa limbah kulit dalam kopi. Proses pengolahan kopi hijau diawali dari penjemuran sampai bobot mencapai 38 persen dari basah. Kopi kering digiling akan menghasilkan kopi bubuk sebesar 16,5 persen, 25,5 persen sisanya berupa campuran limbah kulit luar dan kulit dalam (Muryanto dkk., 2004).

Limbah kulit buah kopi memiliki kadar bahan organik dan unsur hara yang memungkinkan untuk memperbaiki tanah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar C-organik kulit buah kopi adalah 45,3 %, kadar nitrogen 2,98 %, fosfor 0,18 % dan kalium 2,26 %. Selain itu kulit buah kopi juga mengandung unsur Ca, Mg, Mn, Fe, Cu dan Zn. Dalam 1 ha areal pertanaman kopi akan memproduksi limbah segar antara lain kulit kopi, biji kopi yang busuk atau rusak sekitar 1,8 ton setara dengan produksi tepung limbah kulit kopi 630 kg (Dirjen Perkebunan, 2008).

Kulit kopi terdiri dari 3 (tiga) bagian seperti pada gambar 2.1, yaitu :

1. Lapisan bagian luar tipis disebut *Exocarp*. Lapisan ini kalau sudah masak berwarna merah.
2. Lapisan Daging buah disebut *Mesocarp*. Daging buah ini mengandung serabut yang bila sudah masak berlendir dan rasanya manis, maka sering disukai binatang seperti kera atau musang.
3. Lapisan Kulit tanduk atau kulit dalam disebut *Endocarp*. Kulit tanduk ini merupakan lapisan tanduk yang menjadi batas kulit dan biji yang keadaannya agak keras.



**Gambar 2.1 Gambar Struktur Kopi**

Kulit buah kopi merupakan limbah dari pengolahan buah kopi untuk mendapatkan biji kopi yang selanjutnya digiling menjadi bubuk kopi. Kandungan zat makanan kulit buah kopi dipengaruhi oleh metode pengolahannya apakah secara basah atau kering seperti terlihat pada tabel 2.1.

**Tabel 2.1 Kandungan Kulit Kopi**

No	Kandungan	Presentase (%)
1	Selulosa	63
2	Hemiselulosa	2,3
3	Lignin	17
4	Protein	11,5
5	Tanin	1,8-8,56

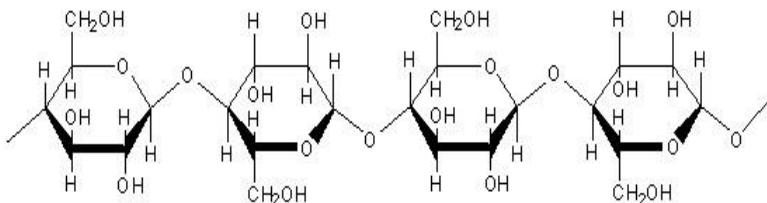
6	Pektin	6,5
7	Kafein	1,3

(Corro,dkk 2013)

## II.2 Kandungan Kulit Kopi

### II.2.1 Selulosa

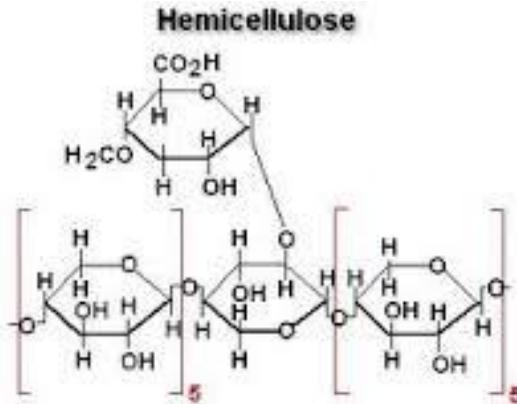
Selulosa ( $C_6H_{10}O_5$ )<sub>n</sub> adalah bagian utama tanaman, berupa homopolisakarida dengan derajat polimerisasi n. Derajat polimerisasi untuk selulosa tumbuhan adalah 305 sampai 15.300 (Widjaja, 2009) ditunjukkan gambar 2.2 :



**Gambar 2.2 Struktur molekul selulosa (Isroi, 2008)**

### II.2.2 Hemiselulosa

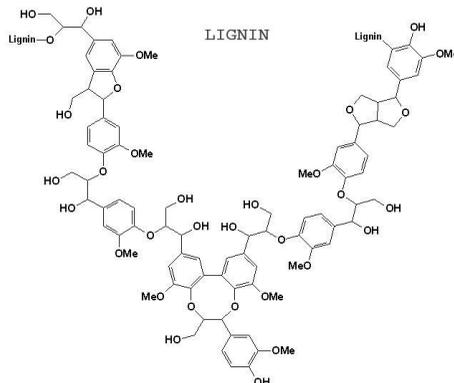
Hemiselulosa adalah struktur karbohidrat kompleks yang terdiri dari polimer yang berbeda seperti pentosa (seperti xilosa dan arabinosa), heksosa (seperti manosa, glukosa, dan galaktosa), dan asam gula. Hemiselulosa adalah polimer dengan rantai yang relative lebih pendek dan bercabang, terdiri dari monomer-monomer seperti xilosa, arabinosa, glukosa, manosa, dan galaktosa dengan struktur *amorf* (Bailey dan Ollis, 1986). Hemiselulosa berfungsi sebagai pendukung dinding sel dan sebagai perekat. Struktur polimer hemiselulosa ditunjukkan gambar 2.3.



**Gambar 2.3 Struktur Hemiselulosa (Anonim, 2013)**

### II.2.3 Lignin

Lignoselulosa adalah polimer yang *amorf* dengan berat molekul yang besar dan struktur yang kompleks. Lignoselulosa lebih tahan terhadap serangan jamur, bakteri dan proses hidrolisis oleh asam (Widjaja, 2009). Struktur lignin ditunjukkan pada gambar 2.4.

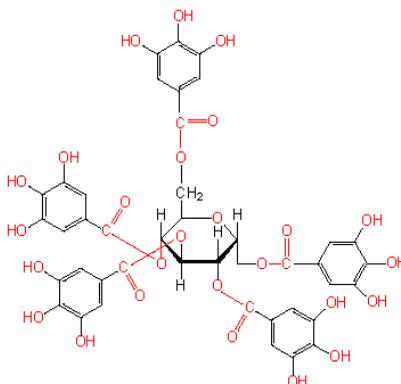


**Gambar 2.4 Struktur Lignin**

(Sumber : <http://www.icfar.ca/lignoworks/content/lignin.html>)

## II.2.4 Tanin

Tanin (atau tanin nabati, sebagai lawan tanin sintetik) adalah suatu senyawa polifenol yang berasal dari tumbuhan, berasa pahit dan kelat, yang bereaksi dengan dan menggumpalkan protein, atau berbagai senyawa organik lainnya termasuk asam amino dan alkaloid. Tanin secara umum didefinisikan sebagai senyawa polifenol yang memiliki berat molekul cukup tinggi (lebih dari 1000) dan dapat membentuk kompleks dengan protein. Struktur tanin ditunjukkan pada gambar 2.5.



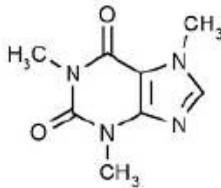
**Gambar 2.5 Struktur Tanin**

(Sumber : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)

## II.2.5 Kafein

Kafein merupakan senyawa kimia alkaloid terkandung secara alami pada lebih dari 60 jenis tanaman terutama teh (1- 4,8 %), kopi (1-1,5 %), dan biji kola(2,7-3,6 %). Kafein merupakan sejenis alkaloid heterosiklik dalam golongan *methylxanthine*, yang menurut definisi berarti senyawa organik yang mengandung nitrogen dengan struktur dua-cincin atau dual-siklik. Molekul ini secara alami terjadi dalam banyak jenis tanaman sebagai metabolik

sekunder. Fungsinya dalam tumbuhan adalah sebagai pestisida alami yang melumpuhkan dan membunuh serangga yang memakan tumbuhan tersebut. Zat ini dihasilkan secara eksklusif dalam daun, kacang-kacangan dan buah-buahan lebih dari 60 tanaman, termasuk daun teh biasa (*Camellia sinensis*), kopi (*Coffea arabica*), kacang koko (*Theobroma cacao*), kacang kola (*Cola acuminata*) dan berbagai macam berry (Reinhardt, 2009). Struktur kafein ditunjukkan pada gambar 2.6

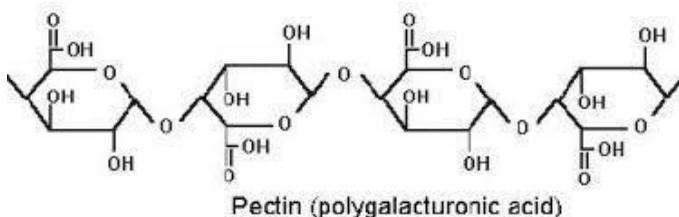


**Gambar 2.6 Struktur Kafein**

(Sumber : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)

## II.2.6 Pektin

Pektin adalah senyawa polisakarida kompleks yang terdapat dalam dinding sel tumbuhan dan dapat di temukan dalam berbagai jenis tanaman pangan. Komponen utama dari senyawa pektin adalah asam D-galakturonat tetapi terdapat juga D-galaktosa, L-arabinosa, dan L-ramnosa dalam jumlah yang beragam dan kadang terdapat gula lain dalam jumlah kecil. Pektin adalah substansi alami yang terdapat pada dinding sel tumbuhan. Dinding sel menentukan ukuran dan bentuk sel dan menyebabkan integritas dan kekakuan jaringan tanaman. Pektin berfungsi sebagai elemen struktural pada proses pertumbuhan serta sebagai perekat dan penjaga stabilitas jaringan dan sel. Struktur pektin ditunjukkan pada gambar 2.7.



**Gambar 2.7 Struktur Pektin**

(Sumber : <https://commons.wikimedia.org/wiki/Pektin>)

### **II.3 Proses Pretreatment Zat Inhibitor Kulit Kopi dengan Mikroorganisme**

Kulit kopi mempunyai beberapa kandungan zat inhibitor yaitu kafein, tannin dan polifenol. Kandungan tersebut jika tidak dihilangkan akan mengganggu pada proses pembuatan bahan baku biogas, maka diperlukan proses pretreatment untuk mendegradasi zat tersebut. Pada penelitian ini proses pretreatment dilakukan secara biologis yaitu menggunakan bantuan mikroorganisme.

#### **II.3.1 Degradasi Kafein Menggunakan Mikroorganisme**

Terdapat beberapa mikroorganisme yang bisa mendegradasi kafein antara lain *Pseudomonas putida*, *Serratia marcescens*, *Bacillus licheniformis*, *Klebsiella*, *Rhodococcus*, *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Brevibacterium sp.*, *Pseudomonas fluorescens* ((Ibrahim dkk, 2014).

##### **II.3.1.1 *Pseudomonas Putida***

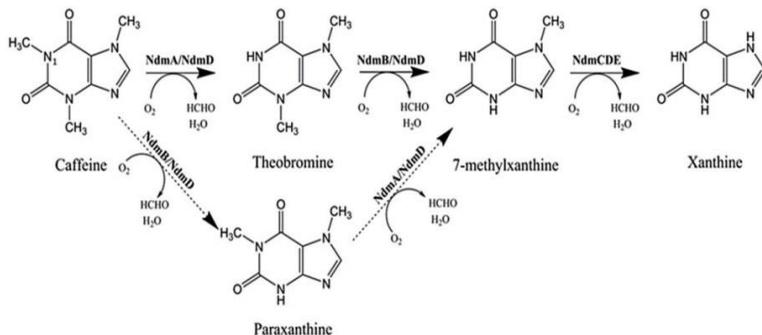
*Pseudomonas putida* merupakan termasuk bakteri yang mempunyai kemampuan memecah toksin organik. Mikroorganisme ini merupakan mikroorganisme yang paling umum hidup di tanah dan lingkungan air tawar di seluruh dunia dengan sifat motilitasnya menggunakan satu atau lebih flagella sehingga dapat ditemukan di bagian permukaan lingkungan tersebut. *P. putida* berbentuk batang, gram-negatif, memiliki 1 atau lebih flagella, hidup secara aerobik, mesofilik. Morfologi *Pseudomonas putida* seperti pada gambar 2.8.



**Gambar 2.8 Bakteri *Pseudomonas Putida***  
 (Sumber : ASM MicrobeLibrary.org)

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: <i>Proteobacteria</i>
Class	: <i>Gammaproteobacteria</i>
Ordo	: <i>Pseudomonadales</i>
Family	: <i>Pseudomonadaceae</i>
Genus	: <i>Pseudomonas</i>
Species Group	: <i>Pseudomonas putida</i> group
Spesies	: <i>Pseudomonas putida</i>

### II.3.1.2 Sistematika Mikroorganisme dalam Proses Degradasi Kafein



**Gambar 2.9 Mekanisme Degradasi Kafein**  
 (Sumber : Wiley, 2015)

Studi metabolik dengan menggunakan isolat bakteri pendegradasi kafein yang disajikan pada gambar 2.9 mempunyai 2 pathway katabolik antara lain : N-demethylation dan C-8 oxydation. Pathway untuk N-demethylation lebih dominan digunakan oleh mikroorganisme pendegradasi kafein seperti pada gambar 2.9. Bakteri memecah kafein menjadi karbon dioksida dan ammonia untuk menghasilkan energi dan membangun dinding sel baru (Summers et al., 2015).

Selama proses N-demethylation, molekul kafein diubah menjadi xanthine. Masing-masing dari 3 kelompok metil dihilangkan dengan menggabungkan molekul oksigen untuk menghasilkan 1 molekul formalin dan 1 molekul air. Proses pengubahan yang pertama ini menghasilkan Theobromine (3,7-dimethylxanthine) dan sejumlah kecil paraxanthine (7-dimethylxanthine) (Yamaoka-Yano dan Mazzafera,1999).

Langkah kedua dalam pathway tersebut adalah N3-dimethylation dari Theobromine dan N1-dimethylation dari Paraxanthine digunakan untuk membentuk 7-methylxanthine. Selanjutnya 7-methylxanthine bersama protein kompleks yang mengandung N7-dimethylxanthine untuk membentuk xanthine.

## **II.3.2 Degradasi Tannin Menggunakan Mikroorganisme**

Untuk mikroorganisme yang dapat mendegradasi tannin adalah *Achromobacter sp*, *Enterobacter aerogenes*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Chaetomium cupreum*, *Cylindrocarpon*, *Trichoderma harzanium* (Tej K Bhat,dkk, 1998).

### **II.3.2.1 *Trichoderma harzianum***

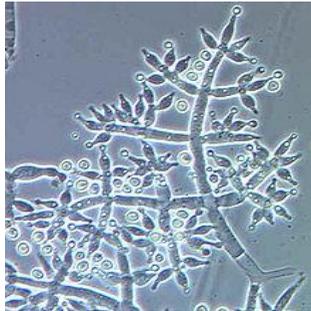
*Trichoderma harzianum* adalah salah satu jenis jamur “green mold” yang mempunyai ciri hifa berseptata dan dapat membentuk konidiofor. Secara vegetative, dapat berkembang biak dengan potongan hifa, dan pada beberapa jenis dapat menghasilkan konidia secara aseksual . Fase konidi jamur ini disebut juga fase imperfect (*Deuteromycetes*). Secara generative dapat membentuk badan buah yang disebut askokarp, yang didalamnya terdapat askus (kantong) yang menghasilkan askopora. Askopora merupakan hasil kariogami dan meiosis.

*Trichoderma harzianum* dapat tumbuh pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*).

Jamur ini dapat memproduksi enzim selulosa yang berfungsi mendegradasi selulosa dan *chitinase* yang dapat mendegradasi kitin (komponen penyusun dinding sel jamur). Oleh karena itu, *Trichoderma harzianum* dapat digunakan sebagai fungisida bagi beberapa jenis jamur lainnya. Hasil metabolit ini dipengaruhi kandungan nutrisi yang terdapat dalam media. *Trichoderma harzianum* dapat memproduksi beberapa pigmen yang bervariasi pada media tertentu seperti pigmen ungu yang dihasilkan pada media yang mengandung ammonium oksalat, dan pigmen jingga yang dihasilkan pada media yang mengandung gelatin atau glukosa, serta pigmen merah pada medium cair yang mengandung glisin dan urea. Selain itu, jamur ini dapat mendegradasi lignin.

Siklus hidup *Trichoderma harzianum* sendiri mencapai 28 hari, dan setelah itu ia akan berduplikasi meskipun dengan kecepatan yang lebih rendah dengan range temperature optimum untuk jamur ini sekitar 86 - 100°F dan pH sekitar 3 – 7, namun dapat diinokulasi pada tanah selama suhu tanah melebihi 59°F.

(Sumber : <http://www.maximumyield.com/article>)

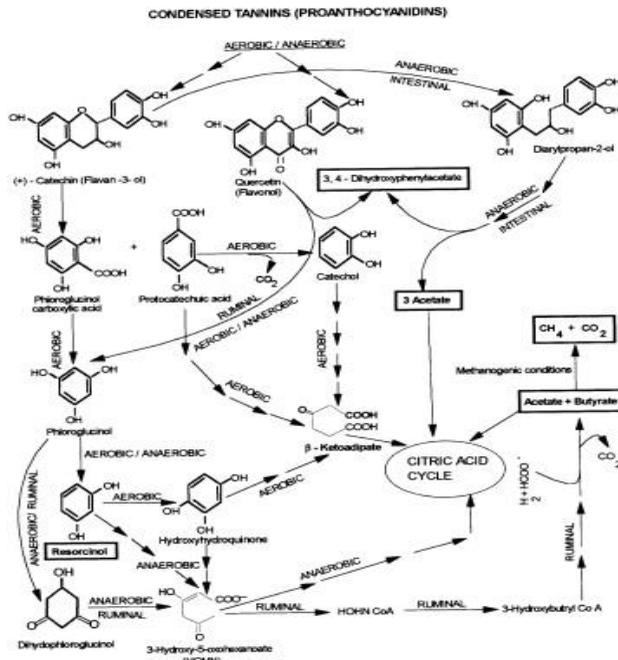


**Gambar 2.10** Fungi *Trichoderma harzianum*

(Sumber : [http://en.wikipedia.org/wiki/Trichoderma\\_harzianum](http://en.wikipedia.org/wiki/Trichoderma_harzianum))

Kingdom : Fungi  
 Divisi : *Ascomycota*  
 Class : *Sordariomycetes*  
 Ordo : *Hypocreales*  
 Family : *Hypocreaceae*  
 Genus : *Trichoderma*  
 Spesies : *Trichoderma harzianum*

### II.3.2.2 Sistematika Mikroorganisme dalam Degradasi Tannin



Gambar 2.11 Mekanisme Degradasi Tannins (Tej K Bhat dkk, 1998)

Monomer asam galat dapat digunakan sebagai substrat dengan pemecahan secara oksidatif menjadi asam alifatik sederhana yang kemudian masuk kedalam siklus asam sitrat. (Field & Lettinga, 1992). Sebelum pembelahan cincin, asam galat terkonversi menjadi *pyrogallol* dengan dekarboksilasi galat. Pemecahan secara aerobik senyawa *flavonoid* berasal dari tannin yang terkondensasi yang terjadi melalui 2 jalur. Degradasi yang pertama ditandai dengan pemecahan cincin heterosiklik dari *catechin (flavan-3-ol)* menjadi asam phloroglucinol karboksilat dengan asam protocatechuic (Barz and Hosel, 1975). Asam phloroglucinol karboksilat dari dekarboksilasi dan pemotongan cincin aromatic dengan berbagai oksigenasi, pada akhirnya membentuk  $\beta$ -*keto adipate* yang merupakan asam alifatik, dengan melalui intermediet seperti *phloroglucinol*, *resorcinol*, dan *hydroxyhydroquinone*. Asam protocatechuic juga terkonversi menjadi  $\beta$ -*keto adipate* melalui jalur  $\beta$ -*carboxy cis*, *cis muconate* dan *cathecol*. Senyawa *Quercetin (Flavonol)* dipecah menjadi 2 yaitu *phloroglucinol* dan *3,4-Dihydroxyphenylacetat*, dimana hasil akhir dari jalur *phloroglucinol* akan membentuk  $\beta$ -*keto adipate*, sedangkan jalur *3,4-Dihydroxyphenylacetat* tidak terdegradasi lebih lanjut (Fewson 1981; Gibson & Subramanian 1984 ; William 1986).

Degradasi dari *hydrolysable tannins* khususnya gallotanins lebih mudah dipahami pada system fungi (Nishira, 1961). Degradasi pada fungi telah dipelajari pada *Aspergillus sp.* Pada *Aspergillus sp.*, khususnya *Aspergillus niger*, asam galat yang merupakan monomer *phenolic* dari tannin terhidrolisa dipecah dengan oksigenasi untuk membentuk asam *tricarboxylic* tidak stabil yang pada akhirnya terdekarboksilasi untuk membentuk asam *cis-aconitic* yang kemudian masuk ke siklus asam sitrat (Watanabe, 1965). Namun pada *Aspergillus flavus*, asam galat terdegradasi membentuk asam oxaloacetic dan akhirnya membentuk asam piruvat melalui asam *tricarboxylic* (William et al, 1986). Pada *Aspergillus niger*, *pyrogallol*, secara

oksidatif dipecah menjadi asam cis-aconitic dengan mekanisme yang sama yang telah diamati pada mikroba.

Jalur degradasi aerob berkerja dengan baik dengan menggunakan *Penicillium sp*, *Aspergillus sp*, dan fungi pada tanah seperti *Chaetomium cupreum* (William et al, 1986). Jalur pada fungi sama dengan jalur yang dimiliki pada bakteri. Mula-mula, *catechin* terdegradasi membentuk asam phloroglucinol carboxylic dan asam protocatechuic dengan oksidasi *catechin*. Kemudian asam *phloroglucinol carboxylic* terdegradasi membentuk *phloroglucinol*, *resorcinol* dan *hydroxyhydroquinone*. *Hydroxyhydroquinone* dipecah oleh *hydroxyquinol-1,2-dioxygenase* untuk membentuk  $\beta$ -ketoadipate.

### **II.3.3 Degradasi Phenol Menggunakan Mikroorganisme**

Untuk mikroorganisme yang dapat mendegradasi *phenol* adalah *Aspergillus terreus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium sp*, *Coprinus cinereus*, *Penicillium sp*, *Geotrichum candida*, *Phanerochaete chrysosporium* (Albert dkk, 2012).

#### **II.3.3.1 *Aspergillus niger***

*Aspergillus niger* merupakan fungi dari filum *ascomycetes* yang berfilamen, mempunyai hifa berseptat, dan dapat ditentukan melimpah di alam. Fungi ini biasanya diisolasikan dari tanah, sisa tumbuhan, dan udara di dalam ruangan. Koloninya berwarna putih pada PDA (*Potato Dextrose Agar*) pada suhu 25°C dan berubah menjadi hitam ketika konidia dibentuk. Kepala konidia dari *Aspergillus niger* berwarna hitam, bulat, cenderung memisah menjadi bagian-bagian yang longgar seiring dengan bertambahnya umur. *Aspergillus niger* dapat tumbuh optimum pada suhu 35-47°C dengan suhu minimum 6 – 8°C, dan suhu maksimum 45 – 47°C. Selain itu, dalam proses pertumbuhannya fungi ini memerlukan oksigen yang cukup (*aerobic*). (Frazier dan Westhoff, 1981).

Dalam metabolisme *Aspergillus niger* dapat menghasilkan asam sitrat sehingga fungi ini banyak digunakan sebagai model fermentasi karena fungi ini tidak menghasilkan mikotoksin

sehingga tidak membahayakan. Selain itu, *Aspergillus niger* menghasilkan *galic acid* yang merupakan senyawa fenolik yang biasa digunakan dalam industry farmasi dan juga dapat menjadi substrat untuk memproduksi senyawa antioksidan dalam industry makanan (Microbewiki, 2013).



**Gambar 2.12 Fungi *Aspergillus niger***

(Sumber : <https://www.studyblue.com/notes/n/mycology>)

### **II.3.3.2 Sistematika Mikroorganisme dalam Degradasi Phenol**

Mikroorganisme aerob pendegradasi *phenol* memiliki kemampuan untuk mengubah phenol menjadi senyawa tak beracun yang masuk siklus asam *Tricarboxylic* melalui jalur degradasi ortho- atau meta-. Langkah pertama pada kedua jalur tersebut adalah *monohydroxylation* pada posisi ortho dari cincin aromatic. Enzim mengkatalisasi reaksi dan memiliki peran penting pada degradasi aerobik senyawa monoaromatik yang disebut *monooxygenase*, *phenol hydroxylase*. *Monooxygenase aromatic* dibagi menjadi 2 yaitu bentuk enzim monokomponen dan multikomponen. Keragaman yang signifikan dan karakteristik fungsional monooxygeneses mampu mengkonversi senyawa aromatic yang berbeda dengan pembelahan cincin aromatic melalui metode modern analisa molekul protein.

### *Phenol hydroxylase*

*Phenol hydroxylase* mengkatalisasi kelompok *hydroxyl* pada posisi ortho dalam cincin aromatic, kemudian menghidrosilasi phenol menjadi *catechol*. Reaksi ini didapatkan pada karakteristik enzim sebagai NADP yang tergantung pada *monooxygenases flavin* dan merupakan langkah pertama pada degradasi komponen aromatic dengan mikroorganisme. Semua monooxygenases termasuk 1 atom dari molekul oksigen akan sesuai dengan substrat, sedangkan atom oksigen lainnya akan mereduksi menjadi H<sub>2</sub>O dengan donor hydrogen pada enzim yang berbeda. Selain phenol, yang digunakan sebagai substrat untuk *hydroxylase phenol*, enzim ini dapat mengkatalisasi hidrosilasi hydroxyl-, amino-, halogen-, atau methyl-.

Rasio NADPH-O<sub>2</sub> yang digunakan pada proses oksidasi *phenol* menjadi *catechol* dengan *phenol hydroxylase* antara 1.35 – 1.06. Kelebihan NADPH ditentukan selama reaksi hidrosilasi yang dapat dijelaskan melalui reaksi NADPH dengan *quinone*, yang dapat dibentuk menjadi produk yang sangat oksidatif (*catechol*). *Phenol hydroxylase* dapat juga menghidrosilasi *catechol* dan produk dari reaksi adalah *pyrogallol*.

## **II.4 Biogas**

Biogas merupakan bahan bakar gas yang dihasilkan oleh aktivitas anaerobik atau fermentasi dari bahan-bahan organik termasuk diantaranya kotoran manusia dan hewan, limbah domestik (rumah tangga), atau degradasi anaerobik bahan-bahan organik oleh bakteri-bakteri anaerobik. Metana dalam biogas, bila terbakar akan relatif lebih bersih daripada batubara, dan menghasilkan energi yang lebih besar dengan emisi karbon dioksida yang lebih sedikit.

Biogas terbentuk ketika mikroorganisme, khususnya bakteri menurunkan kadar zat organik pada kondisi anaerob (tanpa oksigen). Biogas mempunyai keunggulan dibandingkan dengan bahan bakar minyak (BBM) yang berasal dari fosil. Sifatnya yang ramah lingkungan dan dapat diperbarui merupakan keunggulan dari biogas.

Menurut Lynn Bothy (2007), komposisi biogas terdiri dari metana (CH<sub>4</sub>) sekitar 55-70 % , karbon dioksida (CO<sub>2</sub>) sekitar 30-45 %, dan gas lainnya. Komposisi biogas ditunjukkan pada tabel 2.2

**Tabel 2.2 Komposisi Standart Biogas**

Komponen	Satuan	Biogas
Metana (CH <sub>4</sub> )	% vol	55 – 70
Karbon dioksida (CO <sub>2</sub> )	% vol	30 – 45
Nitrogen (N <sub>2</sub> )	% vol	0 – 2
Volatile Organic Compounds (VOC)	% vol	0
Hydrogen (H <sub>2</sub> )	% vol	0
Hydrogen Sulfida (H <sub>2</sub> S)	ppm	>500
Ammonia (NH <sub>3</sub> )	ppm	~100
Carbon Monoxide (CO)	ppm	0
Water Dew Point	°C	Saturated
Heating Value	BTU/SCF	~600

Sumber : Kimberly Lynn Bothy (2007)

#### II.4.1 Proses Fermentasi Pada Pembuatan Biogas

Metana adalah salah satu gas yang dihasilkan dalam proses pembuatan biogas. Metana yang berasal dari proses *enteric fermentation* / hewan ternak, adalah salah satu sumber dari *green house gas* (GHG). Sebagian besar proses *enteric fermentation* adalah proses yang terjadi pada rumen (Takeneka, 2008). Biogas dihasilkan dari proses anaerobic senyawa organik kompleks, seperti lipid polisakarida, protein, lemak, asam nukleat dan lain sebagainya (Yadvika dkk, 2004).

Pada prosesnya dibagi menjadi 3 tahap sebagai berikut :

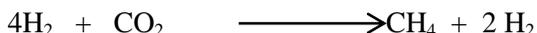
1. Tahap Hidrolisis

Proses hidrolisis memecah molekul organik kompleks menjadi unit yang lebih kecil sebagai contoh gula / monosakarida, asam amino, alcohol, *fatty acid*, dan senyawa organik lain yang lebih sederhana. Proses ini



H<sub>2</sub> dan asam asetat menjadi CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> dan air, dan mengubah H<sub>2</sub> dan asam propionate menjadi CH<sub>4</sub> dengan bakteri *Methanobacterium*, *Methanococcus* (Yadvika dkk, 2004). Jenis reaksinya adalah sebagai berikut :

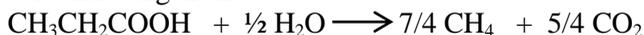
- a. *Hydrogenotrophic metanogen*, proses metanogen yang menggunakan hydrogen dan bereaksi dengan karbon dioksida.



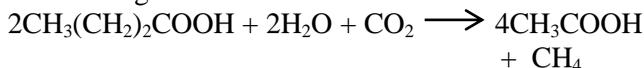
- b. *Acetrophic methanogens*, disebut juga acetoclastic atau metanogen yang memecah asam asetat menjadi metana dan CO<sub>2</sub> oleh bakteri *Methanosarcina Sp* dan *Methanotherix Sp*.



- c. Pembentukan metana dari asam propionate yang bereaksi dengan air.



- d. Proses metanogenesis dengan reaksi antara asam butirat dengan air dan karbondioksida.



Bakteri *methanogen* sangat cocok pada pH netral sampai basa dan sangat sensitive terhadap perubahan. Produksi metana berlangsung dalam digester dan beroperasi dalam kondisi mesofilik (293 – 313 K / 25 – 40°C) dan kondisi termofilik (323 – 333 K / 50 – 65°C) (Gavala dkk, 2003). Digester mesofilik berfungsi secara optimal pada suhu antar 30-35°C. Gas yang dihasilkan dalam proses dibiodigester selain metana adalah karbondioksida CO<sub>2</sub>, senyawa sulfur (H<sub>2</sub>S), sikloalkana, air, dan kontaminan kecil (O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, Cl<sub>2</sub>, F<sub>2</sub>, dll) (Wellinger, 2009). Komposisi akhir dari biogas tergantung dari variable dan sangat bergantung pada material organic yang dipakai dalam proses (Petterson dan Wellinger, 2009).

## II.4.2 Cairan Rumen

Rumen adalah bagian pertama (*first stomach*) didalam lambung sapi yang harus dilewati sebelum makanan dicerna lebih lanjut oleh system pencernaan lainnya. Ukuran rumen adalah 150 – 200 L. Rumen fluid dari sapi mengandung dua quadrillion bakteri dan 1 miliar protozoa. Banyak diantara bakteri tersebut adalah mikroorganisme selulotik anaerobik, dan mampu menghidrolisis selulosa dengan efisiensi yang tinggi, dengan waktu tinggal *solid/ solid residence time* (SRT) yang sangat pendek (sekitar 23-30 jam) (Chynoweth dkk. 2003; Hungate, 1966; Song dkk. 2005). Komposisi lengkap mikroroganisme cairan rumen berdasarkan populasinya dijelaskan dalam Tabel 2.2 dibawah ini:

**Tabel 2.3 Komposisi Mikroorganisme Cairan Rumen**

Mikroorganisme	Jumlah
Protozoa	$10^6$ / g
Arcaea	$10^8$ / g
Bakteri	$10^{10}$ / g
Fungi	$10^4$ / g

(Sumber : Takeneka, 2008)

Fungsi cairan rumen menurut Takeneka (2008) adalah mendegradasi fiber, menghasilkan protein, menghasilkan VFAs, memecah nutrisi, dan menghasilkan metana.

Bakteri pada rumen umumnya terdiri dari gram positif dan gram negatif. Bila bakteri menunjukkan warna ungu, maka dikelompokkan pada jenis bakteri gram positif, dan bila bakteri menunjukkan warna merah maka dikelompokkan pada jenis gram negatif. Hal ini untuk membedakan jenis bakteri berdasarkan ketebalan lapisan peptidoligen dengan ketebalan 20-80 nm pada bakteri gram positif dan 78 nm pada bakteri gram negative (Fitria, 2016). Bakteri gram positif seperti *Staphylococcus aureus* (bakteri patogen yang umum pada manusia) hanya mempunyai membran plasma tunggal yang dikelilingi dinding sel tebal berupa peptidoligen. Sekitar 90% dari dinding sel tersebut tersusun atas peptidoligen sedangkan sisanya berupa molekul lain bernama

asam teikhoat. Di sisi lain, bakteri gram negatif (seperti E. coli) memiliki sistem membran ganda di mana membran pasmanya diselimuti oleh membran luar permeabel. Bakteri ini mempunyai dinding sel tebal berupa peptidoligen, yang terletak di antara membrane dalam dan membrane luarnya.

Jenis bakteri utama rumen (Takeneka, 2008) berdasarkan fungsinya dapat dilihat pada table 2.3.

**Table 2.4 Bakteri Utama Pada Cairan Rumen  
(Takeneka, 2008)**

<b>Fungsi</b>	<b>Jenis Bakteri</b>	<b>Morfologi Bakteri</b>
Pendegradasi selulosa	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Fibrobacter succinogens</li> <li>- Ruminococcus albus</li> <li>- Ruminococcus flavefaciens</li> </ul>	Gram -, batang/rods Gram +, coccus/cocci Gram +, coccus/cocci
Pemakan hemiselulosa dan pektin	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Prevotella ruminocola</li> <li>- Butyrivibrio fibrisolvens</li> </ul>	Gram -, batang/rods Gram +, batang/rods
Starch Fermenter (pemfermentasi pati)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ruminobacter amylophilus</li> <li>- Streptococcus bovis</li> </ul>	Gram -, batang/rods Gram +, batang/rods
Pemakan asam organik	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Megasphaera elsdenii</li> <li>- Selenomonas ruminantium</li> </ul>	Gram -, coccus/cocci Gram -, batang/rods

### **II.4.3 Kotoran Sapi**

Kotoran sapi mengandung sedikit selulosa, lignoselulosa, lignin, dan komponen organic yang baik untuk pertumbuhan bakteri dalam produksi biogas (Corro dkk., 2013). Kotoran sapi

mengandung bakteri dan mikroorganisme sebagai berikut.: *Clostridium*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Enterobacteriaceae* (*E. Coli*), *Ruminococcus*, dll (Alfa dkk., 2014).

Populasi bakteri didominasi oleh bakteri strict anaerob; seperti : *Bacteroides sp*, *Colistridium sp*, dan *Bifidobacterium*, kemudian bakteri facultative anaerob dan patogen seperti *Enterobacteriaceae*; seperti *E. Coli*, *Salmonella sp*, *Shigella sp*, dll, bakteri-bakteri yang lain juga mengikuti secara konsisten, sebanyak 43 jenis bakteri (Dowd dkk., 2008).

Seperti yang terlihat pada tabel II.8 bakteri *Ruminococcus sp*. hanya terdapat 3.57% dari total populasi bakteri yang ada, bakteri ini adalah bakteri pendegradasi selulosa yang berada dalam jumlah yang sedikit daripada bakteri lainnya. Sedangkan bakteri pendegradasi hemiselulosa dan lignoselulosa tidak ditemukan. Fungsi bakteri dan fungi pada kotoran sapi adalah membebaskan nitrogen, *Basillus* dan *Pseudomonas* berfungsi melarutkan fosfat sebagai biofertilizer, *Basillus* juga melarutkan silikat dan zinc untuk menghidupkan *Rhizobakteria*, *Aspergillus* dan *Penicilicum* juga berfungsi melarutkan *phosphate* (Alfa dkk., 2014)

**Tabel 2.5 Bakteri Yang Terdapat pada Kotoran Sapi (n=20)**

ID	Rata-rata % populasi pada setiap sapi
<b>Jenis Patogen dan Bakteri lainnya :</b>	
<i>Clostridium sp</i>	19 (3.57)
<i>Bacteroides sp</i>	9.26 (2.17)
<i>Porphyromonas sp</i>	7.34 (2.28)
<i>Alistipes sp</i>	6.61 (1.35)
<i>Lacnospireae-like</i>	5.7 (2.77)
<i>Prevotella sp</i>	5.47 (2.13)
<i>Porphyromonas-like</i>	6.37 (2.02)
<i>Bacteroidales sp</i>	4.11 (2.36)

<i>Lachnospira sp</i>	3.73 (2.18)
<i>Akkemansia sp</i>	3.42 (1.97)
<i>Enterococcus sp</i>	2.95 (1.91)
<i>Firmicutes sp</i>	1.88 (0.88)
<i>Oscilospira sp</i>	1.59 (0.62)
<i>Prevotellaceae sp</i>	2.6 (3.19)
<i>Cytophaga sp</i>	1.35 (0.76)
<i>Eubacterium sp</i>	1.31 (0.53)
<i>Francisella sp</i>	1.65 (0.75)
<i>Papillibacter sp</i>	1.15 (0.58)
<i>Spiroplasma sp</i>	1.13 (0.52)
<i>Sedimentibacter sp</i>	1.04 (0.77)
<i>Treponema sp</i>	0.93 (0.54)
<i>Victicallis sp</i>	1.14 (0.86)
<i>Peptococcus sp</i>	0.71 (0.49)
<i>Echerichia sp</i>	0.68 (0.75)
<i>Anaerotunas sp</i>	0.54 (0.24)
<i>Anaseophaga sp</i>	0.9 (0.44)
<i>Acidaminococcus sp</i>	0.46 (0.23)
<i>Paenibacillus sp</i>	0.59 (0.29)
<i>Streptococcus sp</i>	0.55 (0.31)
<i>Fucophilus sp</i>	0.53 (0.26)
<i>Flavabacteriaceae sp</i>	0.81 (0.94)
<i>Alterococcus sp</i>	0.78 (0.39)
<i>Chrysbacterium sp</i>	0.53 (0.29)
<i>Catabacter sp</i>	0.64 (0.42)
<i>Peptoseptretptococcus sp</i>	0.56 (0.41)
<i>Roseburia sp</i>	0.44 (0.30)
<i>Sporabacter sp</i>	0.59 (0.41)
<i>Clostriceae sp</i>	0.41 (0.29)
<i>Adholeplasma sp</i>	0.45 (0.24)
<b>Jenis Bakteri Rumen :</b>	
<i>Ruminococcus sp</i>	3.57 (1.35)

Sumber : Dowd dkk, 2008

## **II.5 Faktor yang Berpengaruh dalam Proses Anaerobik dalam Pembuatan Biogas**

Proses anaerobic yang menggunakan mikroorganisme sangat bergantung pada pH, temperature, HRT, C/N Ratio, dan lain-lain, yang secara relative adalah proses lambat (Yadvika dkk, 2004). Berikut ini adalah hal yang berpengaruh dalam proses anaerobic :

### **1. pH**

pH adalah factor penting dalam proses anaerob. pH optimum didalam digester adalah 6,8 – 7,2. Jumlah CO<sub>2</sub> dan *volatile fatty acid* akan berpengaruh pada pH digester. Untuk fermentasi anaerobic, konsentrasi VFA, asam asetat sebaiknya dibawah 2000 mg/L (Yadvika dkk, 2004). Pada pH diatas 5 efisiensi produksi CH<sub>4</sub> lebih dari 75% (Jain dan Mattiason, 1998).

### **2. Temperatur**

Temperatur memiliki pengaruh yang besar pada proses anaerob, proses anaerob bias terjadi dalam 3 temperatur yang berbeda, yaitu : *psyrophilic* (<30°C), *mesophilic* (30-40°C), dan *thermophilic* (50-60°C). Bakteri anaerob berada dalam kondisi sangat aktif pada kondisi *mesophilic* dan *thermophilic* (Mital, 1996)

### **3. C/N Ratio**

Perbandingan karbon dengan nitrogen secara umum sudah diketahui bahwa selama proses anaerobik, mikroorganisme menggunakan 25-30 kali lebih banyak karbon dari pada nitrogen, sehingga C/N Ratio yang dibutuhkan dalam proses anaerobic adalah 20-30/ 1 C terhadap N (Bardiya dan Gaur, 1997), sedangkan untuk perbandingan COD : N : P untuk proses anaerob adalah 1000 : 12,5 : 2,5 (Yuniarta dan Reapradana, 2007).

### **4. Ukuran Partikel**

Ukuran substrat tidak boleh terlalu besar karena akan menyulitkan mikroba untuk menguraikannya. Ukuran partikel yang lebih kecil bisa memaksimalkan luas permukaan untuk proses adsorbs substrat yang akan menghasilkan naiknya aktivitas

mikroba sehingga bisa menaikkan produksi gas (Yadvika dkk., 2004).

## 5. Pengadukan

Pengadukan dibutuhkan untuk memberikan kontak yang lebih besar antara mikroorganisme dan substrat sehingga akan memperbaiki proses *digestion* (Yadvika dkk., 2004). Pengadukan juga berguna untuk memperbaiki produksi gas. (Mohanrao, 1974 ; Aubart dan Farinet, 1983 ; Van dan Faber, 1993).

## 6. *Seeding of Biogas Plant*

Seringkali diperlukan untuk menambahkan *seeding bacteria* kedalam digester untuk *start-up* proses anaerobik. Penambahan inokulum bertujuan menaikkan *yield* gas dan metana pada biogas (Yadvika dkk., 2004). Penambahan inokulum memungkinkan untuk menaikkan *yield* gas dan untuk mengurangi waktu tinggal (Dangaggo dkk., 1996; Kanwar dan Guleri, 1995 ; Kotsyurbenko dkk. 1993).

## 7. *Solid Concentration*

Jumlah substrat yang bisa difermentasikan dari feed dalam satuan volume of *slurry* (VS) didefinisikan sebagai konsentrasi *solid*. Proses fermentasi tidak stabil pada konsentrasi *solid* 7% (kotoran hewan) dan pada level 10% menyebabkan *fermenter overload* (Baserja, 1984). Konsentrasi *solid* 7-9% adalah yang terbaik (Zennaki dkk., 1996). Konsentrasi *solid* bias juga dinyatakan dengan TS (Total Solid). Terdapat tiga *range* kandungan *solid* yaitu:

- *Sistem Low Solid (LS) Anaerobic Digestion*, mengandung kurang dari 10% *Total Solid* (TS).
- *Sistem Medium Solid (MS) Anaerobic Digestion*, mengandung 15 hingga 20% *Total Solid* (TS).
- *Sistem High Solid (HS) Anaerobic Digestion*, mengandung 22 hingga 40% *Total Solid* (TS). Ketika kandungan total *solid* dinaikkan, maka volume digester menurun, karena jumlah air yang dibutuhkan berkurang

## II.6 Hasil Penelitian Sebelumnya

Hasil penelitian sebelumnya yang mendasari penelitian adalah sebagai berikut :

**Tabel 2.6 Hasil Penelitian Sebelumnya**

No	Penulis	Judul Penelitian	Hasil
1	M Haikal, dkk. (1998)	Degradation and Product Analysis of Caffeine and Related Dimethylxanthines by Filamentous Fungi	Penelitian ini dilakukan terhadap 20 strain fungi untuk menguji kemampuan untuk tumbuh pada medium yang mengandung kafein seperti CS medium serta menguji kemampuan degradasi kafein. Dari penelitian tersebut didapatkan hasil bahwa dari 20 strain didapatkan 7 strain yang mampu tumbuh pada CS medium, diantaranya dari jenis <i>Aspergillus sp.</i> dan <i>Penicillium sp.</i> Untuk kecepatan degradasi kafein, dilakukan penelitian selama 48 jam pada 7 strain dengan hasil bahwa pada spesies <i>Penicillium commune</i> menunjukkan hasil yang terbaik dengan % degradasi sebesar 67.7 % dan kecepatan degradasi sebesar 48 mg/L h.
2	M Cruz Hernandez et al. (2005)	Isolation and Evaluation of Tannin-degrading	Penelitian ini dilakukan terhadap 11 strain fungi yang ditumbuhkan pada medium yang mengandung tannin. Pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui

		Fungal Strains from The Mexican Desert	presentase degradasi pada hydrolystable tannins (tannins acid) dan condence tannins (catechin). Dari penelitian ini didapatkan hasil bahwa fungi dengan spesies <i>Aspergillus niger</i> menunjukkan degradasi hydrolystable tannins paling tinggi diantara fungi lainnya dengan presentase degradasi sebesar 67%. Sedangkan <i>Aspergillus niger</i> dan <i>Penicillium commune</i> menunjukkan degradasi catechin paling tinggi dengan presentase berurutan 79.33 % dan 76.35%.
3	Grisel Corro, et al. (2013)	Generation of Biogas from Coffee-Pulp and Cow-Dung Co-Digestion : Infrared Studies of Postcombustion Emissions	Penelitian ini dilakukan dengan memproduksi metana menggunakan biomassa dari pulp kopi yang dicampur dengan kotoran sapi. Kecepatan konversi metana pada substrat campuran pulp kopi dengan kotoran sapi sangat rendah, dalam 1.5 bulan pertama masih dibawah 10%, dan 2 bulan digestion time masih sekitar 30%. Walaupun pada konsentrasi metana campuran menghasilkan yield yang besar dari pada substrat lainnya namun SRT nya sangat lama

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **III.1 Tempat Penelitian**

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Pengolahan Limbah Biologi Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik Industri, Institut Teknologi Sepuluh Nopember – Surabaya. Penelitian yang dilakukan meliputi : 1) Pengujian kemampuan bakteri dalam mendegradasi zat inhibitor. 2) Analisa zat inhibitor dan lignoselulosa sebelum pretreatment dan sesudah pretreatment. 3) Proses pembuatan Biogas dengan hasil pretreatment terbaik. 4) Analisa biogas, TS, VS, Heating Value.

#### **III.2 Bahan dan Alat**

##### **III.2.1 Bahan**

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Kulit Kopi
2. Cairan Rumen
3. *Pseudomonas putida*
4. *Aspergillus niger*
5. *Trichoderma harzianum*
6. Media *Nutrient Broth Agar*
7. Media *Potato Dextrose Agar*
8. Aquades
9. Kotoran sapi
10. Cairan Rumen

##### **III.2.2 Alat**

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Inkubator
2. Indikator pH universal
3. Tabung reaksi
4. Erlenmeyer
5. Timbangan
6. Gelas ukur

7. Tangki starter
8. Reaktor Biogas
9. Termometer
10. Pengaduk
11. Shaker
12. Beaker glass
13. Pipet
14. Autoclave
15. Oven
16. Desikator
17. Cawan petri
18. Kaca arloji

### III.3 Variabel Penelitian dan Kondisi Operasi

#### III.3.1 Variabel Penelitian

##### ➤ Pretreatment Substrat

Variabel pretreatment substrat yang digunakan adalah sebagai berikut :

1. Massa kulit kopi sebesar 42.5 gram
2. Pembuatan larutan substrat dengan perbandingan kulit kopi : air = 1:4 (w/v) (g/mL)
3. Konsentrasi mikroorganisme yaitu 15% (v/w) dari larutan substrat
4. Rasio jumlah mikroorganisme (*Pseudomonas putida*, *Trichoderma harzianum*, dan *Aspergillus niger*) pada fase log sebesar (v:v:v) :
 

- 1:1:1	- 2:1:1
- 1:2:1	- 2:2:1
- 1:1:2	- 2:1:2
- 1:2:2	

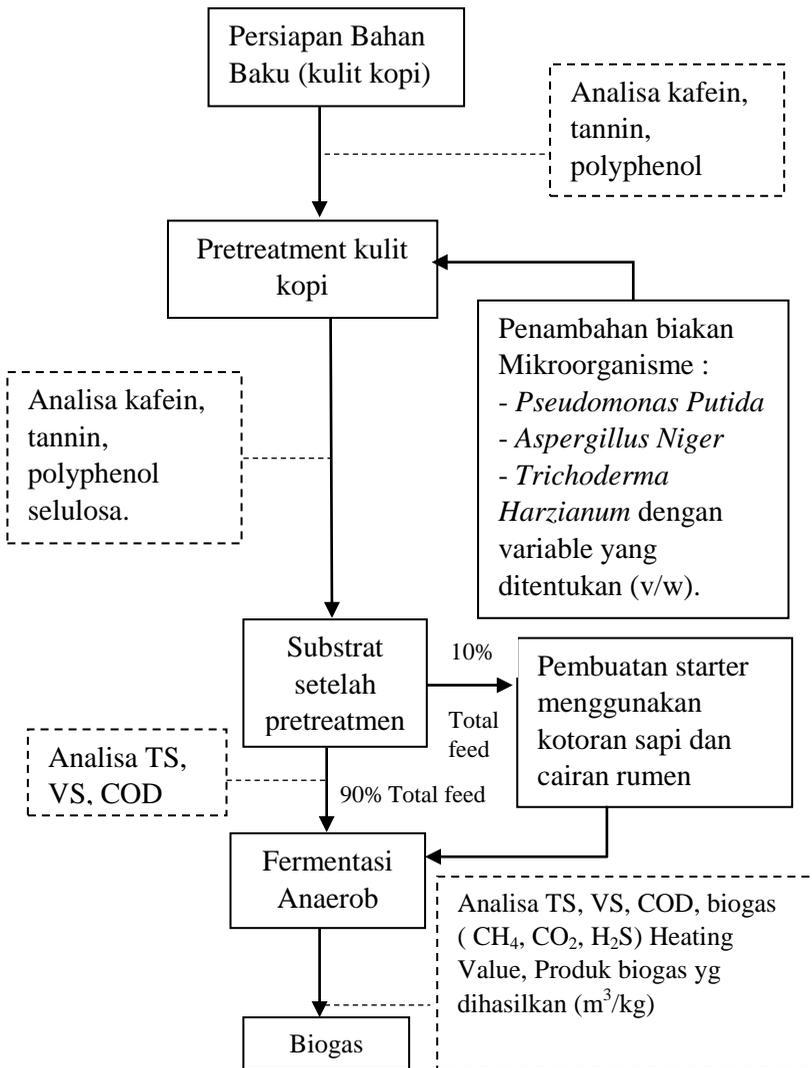
##### ➤ Fermentasi

- Pembuatan starter yang ditambahkan sebesar 10% total feed kulit kopi dari hasil terbaik *pretreatment* dengan rasio kotoran sapi : cairan rumen yang ditambahkan 2 L air sebesar 1:0 , 0:1 , 1:1 , 1:2 , 2:1 (w/v)

### III.3.2 Kondisi Operasi

- Kondisi Operasi Pretreatment :
  - Ukuran Substrat (kulit kopi) :  $\pm 100$  mesh
  - pH *Pseudomonas putida* : *Trichoderma harzianum*  
: *Aspergillus niger* : 5-6
  - Suhu *Pseudomonas putida* : *Trichoderma harzianum*  
: *Aspergillus niger* : 30°C
  - Total waktu *pretreatment* : 7 hari
- Kondisi Operasi Pembuatan Starter:
  - Ratio kotoran sapi : cairan rumen sesuai dengan variabel ditambahkan air 2L
  - Waktu fermentasi : 5 hari
  - Suhu : 30°C
  - pH : 6-7
  - Starter sebanyak 10% dari total feed masuk ke reaktor biogas
- Kondisi Operasi Pembuatan Biogas :
  - Volume reaktor : 6 L
  - Volume substrat : 4,5 L
  - Volume larutan substrat : 4,05 L (90% dari total feed)
  - Volume starter : 0,45 L (10% dari total feed)
  - Suhu Operasi : 30-35°C
  - pH : 6 – 7
  - Tekanan Operasi : 1 atm
  - Substrat : *slurry* hasil *pretreatment* terbaik
  - Lama fermentasi : 20 hari
  - Proses yang dilakukan adalah *batch process*

### III.4 Tahapan Prosedur Penelitian



Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian

### III.4.1 Prosedur Penelitian

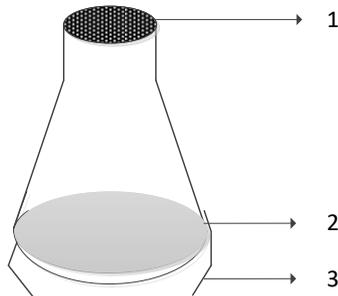
#### 1. Persiapan Substrat

Kulit kopi didapatkan dari pengolahan kopi rakyat yang berada di Bangelan, Jawa Timur. Persiapan substrat tanpa *pretreatment* hanya dilakukan proses pengecilan dan penyeragaman ukuran substrat. Persiapan substrat tanpa *pretreatment* hanya dilakukan proses pengecilan dan penyeragaman ukuran substrat. Sedangkan *pretreatment* pada kulit kopi dilakukan adalah secara biologi menggunakan mikroorganisme.

#### 2. *Pretreatment* Limbah Kulit Kopi

*Biological pretreatment* dilakukan dengan bantuan mikroorganisme antara lain *Pseudomonas putida*, *Aspergillus niger*, dan *Trichoderma harzianum* dengan perbandingan yang telah dijelaskan di atas. Metode *pretreatment* yang digunakan adalah sebagai berikut :

- Kulit kopi sebanyak 42.5 gram dimasukkan kedalam erlenmeyer berukuran 250 mL dicampur dengan air sebanyak 170 mL.
- 30 mL cairan campuran mikroorganisme yang telah dipersiapkan dimasukkan ke dalam wadah tersebut dengan perbandingan yang telah disebutkan.
- Proses *pretreatment* dilakukan selama 7 hari dengan suhu 30°C pada pH 5-6.
- Pengambilan sampel dilakukan setiap 2 hari sekali selama 7 hari berupa substrat kulit kopi dan media cair.
- Dari proses tersebut didapatkan perbandingan terbaik jumlah mikroorganisme yang ditambahkan dengan ditunjukkan jumlah penurunan kandungan zat inhibitor yang paling besar.

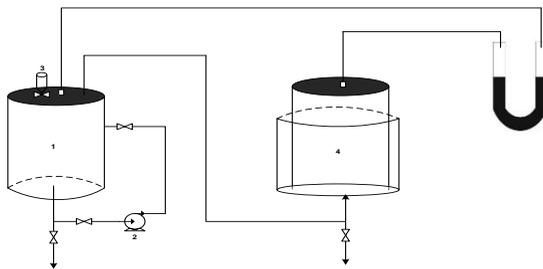


**Gambar 3.2 Skema Alat Pretreatment Kulit Kopi**

Keterangan :

1. Penutup kapas
  2. Larutan campuran kulit kopi dan mikroorganisme
  3. Penjepit shaker
3. Pembuatan Biogas
- Pembuatan Starter :
    - a. Kotoran sapi dan cairan rumen dengan variabel yang ditentukan dicampur dengan air sebanyak 2 L.
    - b. Kotoran sapi dan cairan rumen tersebut dicampurkan dengan 10% dari total kulit kopi dari hasil pretreatment terbaik, kemudian difermentasi selama 5 hari sebelum dimasukkan ke dalam reaktor biogas. (Abdillah Jaka dkk, 2013)
    - c. Sebelum dimasukkan kedalam reaktor, starter yang telah difermentasi dicek kadar gas  $\text{CH}_4$  terlebih dahulu.
    - d. Jika telah terbentuk gas  $\text{CH}_4$ , maka starter ditambahkan kedalam reaktor. Jika belum terbentuk, fermentasi starter dilanjutkan hingga terbentuk gas  $\text{CH}_4$ .

- Fermentasi Anaerob
  - a. Substrat hasil pretreatment terlebih dahulu dipisahkan dari filtratnya. Kemudian dioven selama 24 jam dengan suhu  $105^{\circ}\text{C}$  sebelum dicampur dengan starter.
  - b. Campuran antara starter dan substrat yang telah dipretreatment difermentasi selama 40 hari. Untuk menjaga kondisi optimum fermentasi suhu dijaga diantara range suhu mesofilik ( $30\text{-}40^{\circ}\text{C}$ ) (Yadvika dkk, 2004). Pengukuran kadar pH dilakukan setiap hari untuk memastikan pH dalam kondisi optimum (6-7) dan apabila terjadi penurunan pH maka dilakukan penambahan NaOH 1N, setiap reaktor dilakukan pengadukan sebanyak 2 kali sehari (Corro, 2013), kemudian setiap 5 hari sekali dilakukan pengambilan sampel untuk analisa Total Solid, Volatile Solid, COD, dan biogas ( $\text{CH}_4$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ , Heating Value).



**Gambar 3.3 Skema Peralatan Pembuatan Biogas**

Keterangan :

4. Tanki Feed
5. Pompa
6. Feed masuk
7. Gas Holder
8. Manometer

### III.5 Metode Analisa

#### III.5.1 Analisa Kandungan Biogas

Analisa Kandungan Biogas (CH<sub>4</sub> dan CO<sub>2</sub>) dalam sampel dengan menggunakan *Gas Chromatography* (GC). Pengambilan sampel gas dilakukan dengan menggunakan *syringe* yang disuntikkan melalui *gas sampling point pada gas holder*. Analisis kadar metana dilakukan dengan gas kromatografi (GC), dengan cara sebagai berikut. Sampel gas sebanyak 0,2 ml diinjeksikan ke dalam *port injector* dengan temperatur injeksi 200°C. Gas nitrogen (N<sub>2</sub>) digunakan sebagai gas pembawa dengan kecepatan 15 cm/sec. Sampel gas yang dibawa oleh gas N<sub>2</sub> selanjutnya masuk ke dalam kolom. Kolom yang digunakan adalah Porapak Q dengan panjang 30 m, *inner diameter* 0,35 mm dan temperaturnya 30°C. Kemudian dideteksi menggunakan detektor TCD dengan temperatur 200°C. Hasil deteksi yang didapat berupa puncak grafik dicatat dengan *recorder* untuk diketahui luas areanya.

#### III.5.2 Analisa Total Solid (TS) dan Volatile Solid (VS)

##### III.5.2.1 Analisa TS

Cawan porselein dipanaskan selama 1 jam pada suhu 550°C pada *furnace*, kemudian dinginkan didalam desikator, setelah dingin cawan kosong ditimbang (W<sub>dish</sub>). Sebanyak 10 ml sampel dimasukkan ke dalam cawan yang telah ditimbang sebelumnya kemudian ditimbang kembali (W<sub>sample</sub>). Cawan berisi sampel dimasukkan ke dalam oven kemudian dipanaskan selama 12 jam pada suhu 105°C. Kemudian cawan didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali sampai beratnya tetap (W<sub>total</sub>).

$$\%total\ solid = \frac{W_{total} - W_{dish}}{W_{sample} - W_{dish}} \times 100$$

Keterangan :

W<sub>dish</sub> = berat cawan

W<sub>sample</sub> = berat sampel dan cawan

W<sub>total</sub> = berat sampel kering dan cawan

(EPA Method 1684,2001)

### III.5.2.2 Analisa abu dan VS

Cawan berisi sampel yang telah ditimbang TS-nya kemudian dipanaskan kembali di dalam *furnace* pada suhu 550°C selama 2 jam. Setelah itu cawan porselein didinginkan hingga mencapai suhu kamar dan ditimbang kembali beratnya.

$$Ash \left[ \frac{mg}{l} \right] = a \times \left( \frac{1000}{v} \right)$$

Keterangan :

a = perbedaan berat dari cawan penguap setelah dipanaskan pada suhu 550°C dengan berat cawan kosong.

v = volume sampel.

$$VS \left[ \frac{mg}{L} \right] = TS \left[ \frac{mg}{L} \right] - Ash \left[ \frac{mg}{L} \right]$$

*(EPA Method 1684, 2001)*

### III.5.3 Analisa BOD (Biological Oxygend Demand)

1. Menyiapkan 4 buah botol winkler yang sudah dicuci bersih.
2. Mengambil 10 mL sampel sesuai variable dan memasukkannya ke dalam botol winkler yang telah disiapkan.
3. Menambahkan aquades ke dalam botol hingga volume 250 mL dan 1 botol yang kosong diisi dengan aquades saja sebanyak 250 mL.
4. Mengukur DO (Dissolve Oxygen) pada masing-masing botol menggunakan DO-meter sebagai pengukuran DO<sup>0</sup>.
5. Menginkubasi keempat botol selama 5 hari.
6. Setelah inkubasi, mengukur kembali DO pada masing-masing botol dan dicatat sebagai DO<sub>5</sub>.

$$BOD_5 \left( \frac{mg}{L} \right) = (DO_s^5 - DO_f) + \left[ \frac{250 mL}{10 mL} \times (DO_f - DO_s^0) \right]$$

$BOD_5$  = *bioogical oxygen demand* hari ke-5

$DOs^0$  = *dissolved oxygen* sampel pada hari ke-0

$DOs^5$  = *dissolved oxygen* sampel pada hari ke-5

$DO_f^5$  = *dissolved oxygen* aquadest pada hari ke-5

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Hasil analisa komposisi awal kulit kopi yang digunakan sebagai bahan baku dalam penelitian ini seperti tertulis pada tabel 4.1.

**Tabel 4.1 Hasil Analisa Komposisi Kulit Kopi**

<b>Komponen Kulit Kopi</b>	<b>Kadar (%)</b>
Selulosa	57.9
Hemiselulosa	21.63
Lignin	5.21
Pektin	2.28
Tanin	4.81
Kafein	0.86
Polyphenol (total fenol)	3.48

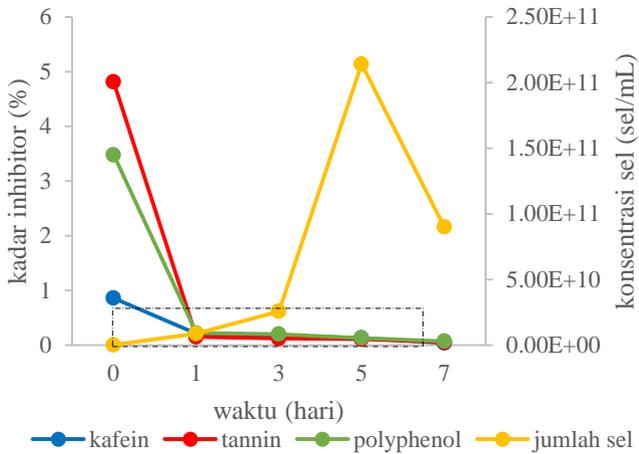
Komposisi diatas merupakan komposisi kulit kopi yang telah dikeringkan sebelum proses pretreatment. Hasil analisa tersebut sedikit berbeda dengan komposisi kulit kopi Corro (2013). Perbedaan komposisi tersebut bisa diakibatkan karena asal, jenis, dan kematangan bahan baku yang dapat mempengaruhi biomassa (Van Dam, 2006)

#### IV.1 Pretreatment Kulit Kopi

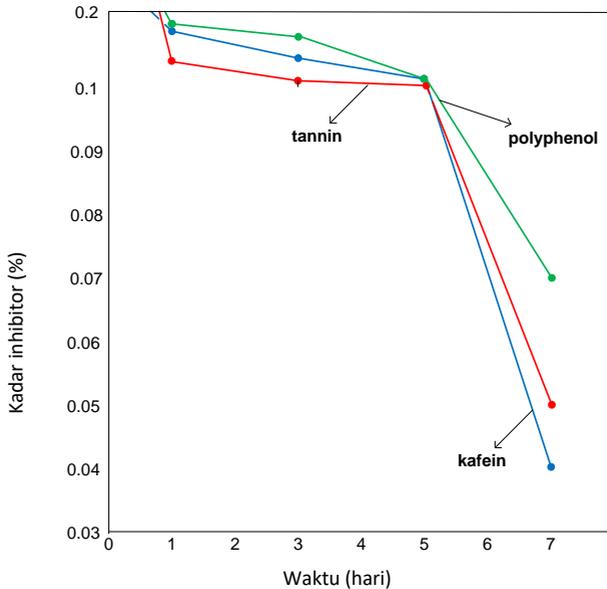
Pada kulit kopi terdapat beberapa zat kimia yang berfungsi sebagai zat inhibitor yang dapat mempersulit degradasi material organik (inhibitor) seperti kafein, tannin, dan *polyphenol* (Corro, 2013). Untuk menghilangkan zat tersebut dilakukan pretreatment secara biologis menggunakan 3 mikroorganisme yaitu *Pseudomonas Putida*, *Trichoderma Harzianum*, dan *Aspergillus Niger*.

Pretreatment ini dilakukan dengan cara mencampurkan 3 mikroorganisme tersebut sesuai dengan variabel yang ditentukan.

Pretreatment dilakukan pada suhu 30°C selama 7 hari dan campuran mikroorganisme masuk reaktor pada saat fase log. Berdasarkan grafik 4.1 sampai dengan 4.14 menunjukkan perbandingan antara penurunan senyawa inhibitor pada kulit kopi dengan jumlah mikroorganisme.

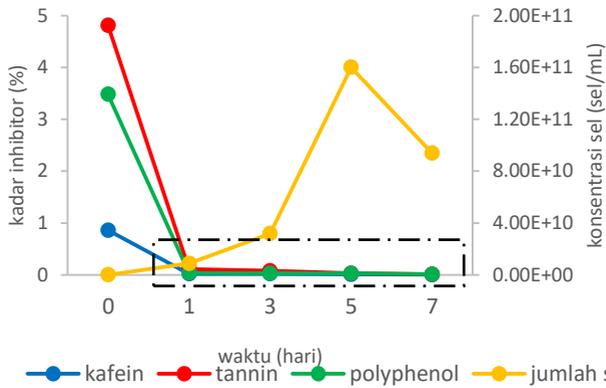


**Grafik 4.1 Hubungan antara kadar zat inhibitor dan kenaikan konsentrasi sel terhadap waktu pada rasio *P.putida*: *T.harzianum*: *A.niger* = 1:1:1**

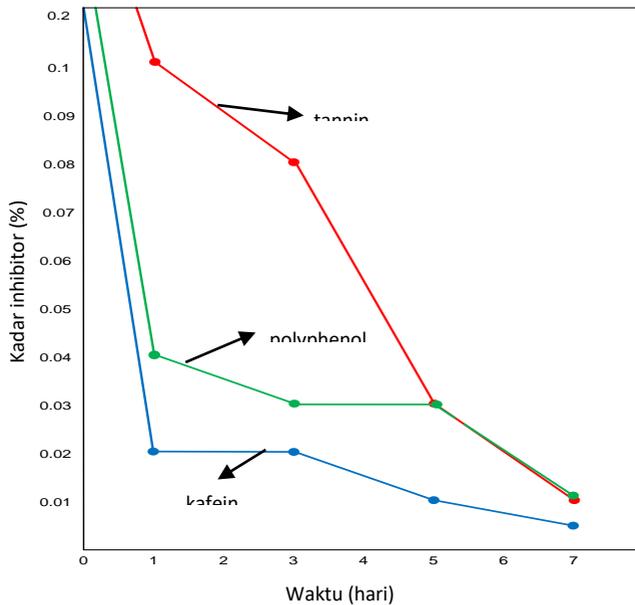


**Grafik 4.2 Perbesaran grafik 4.1**  
**Skala range 0.01-0.2%**

Untuk variabel diatas, menunjukkan bahwa kafein mengalami penurunan dari 0.86% sampai 0.04%, tannin dari 4.81% sampai 0.05%, demikian pula dengan polyphenol mengalami penurunan dari 3.48% sampai 0.07%. Pada hari 1, grafik langsung mengalami penurunan yang drastis dikarenakan mikroorganisme yang diumpankan ke dalam reaktor berada pada fase log dimana, fase ini merupakan fase perkembangan yang aktif bagi mikroorganisme. Mikroorganisme yang dapat mendegradasi kafein adalah *Pseudomonas putida* (Mazzafera P, 2002). Bakteri tersebut memecah kafein menjadi xanthine. Begitu pula dengan *Trichoderma harzianum* yang memecah senyawa tannin menjadi asam galat (Tej K. Bhat, 1998) dan *Aspergillus niger* yang mampu mengubah phenol menjadi senyawa tak beracun yaitu pyrogallol (Albert C, 2013 ).

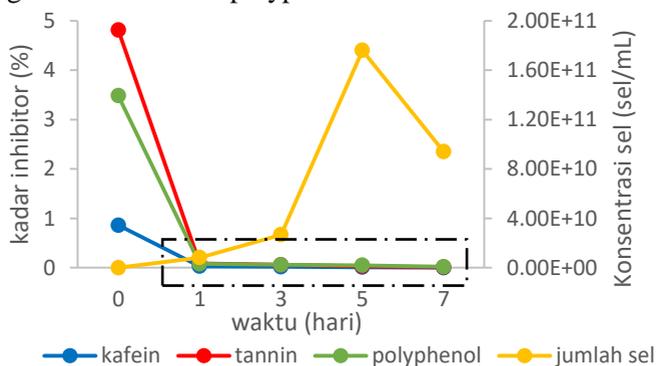


**Grafik 4.3 Hubungan antara kadar zat inhibitor dan kenaikan konsentrasi sel terhadap waktu pada rasio *P.putida*: *T.harzianum*: *A.niger* = 1:2:2**

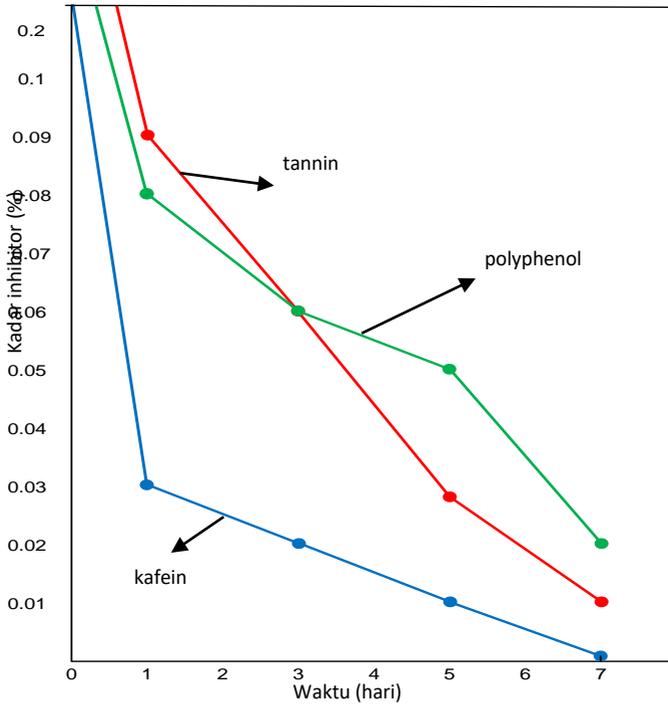


**Grafik 4.4 Perbesaran grafik 4.3 Skala range 0.01-0.2%**

Pada grafik 4.3 dan grafik 4.4 menunjukkan bahwa kafein mengalami penurunan dari 0.86% sampai 0.005%, tannin dari 4.81% sampai 0.01%, demikian pula dengan polyphenol mengalami penurunan dari 3.48% sampai 0.011%. Pada hari 1, grafik langsung mengalami penurunan kadar lebih besar daripada variabel 1:1:1. Hal tersebut disebabkan, karena jumlah dari *Trichoderma harzianum* dan *Aspergillus niger* lebih banyak sehingga, penurunan zat inhibitor lebih banyak dan 2 Mikroorganisme tersebut memang berperan aktif dalam mendegradasi tannin dan polyphenol.

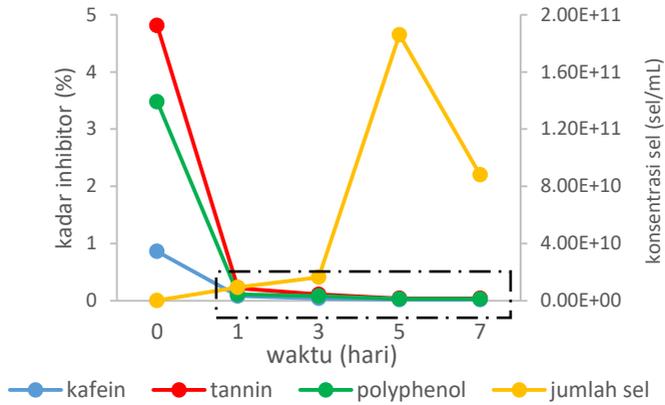


**Grafik 4.5 Hubungan antara kadar zat inhibitor dan kenaikan konsentrasi sel terhadap waktu pada rasio *P.putida*: *T.harzianum*: *A.niger* = 1:2:1**

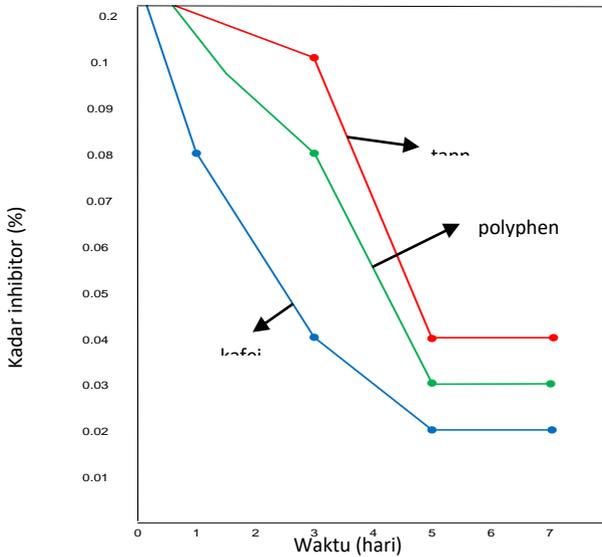


**Grafik 4.6 Perbesaran grafik 4.5**  
**Skala range 0.01-0.2%**

Kafein mengalami penurunan dari 0.86% sampai 0.001%, tannin dari 4.81% sampai 0.01%, demikian pula dengan polyphenol mengalami penurunan dari 3.48% sampai 0.02% pada variabel penambahan ratio 1:2:1. Pada hari 1, grafik langsung mengalami penurunan kadar zat inhibitor seperti pada variabel sebelumnya. Penurunan kadar tannin dengan variabel 1:2:2 bernilai sama. Hal tersebut disebabkan, karena jumlah dari *Trichoderma harzianum* sama banyak dengan variabel 1:2:2. Menurut Tej K. Bhat, 1998 bahwa, *Trichoderma harzianum* memang mampu berperan aktif dalam mendegradasi tannin menjadi asam galat.

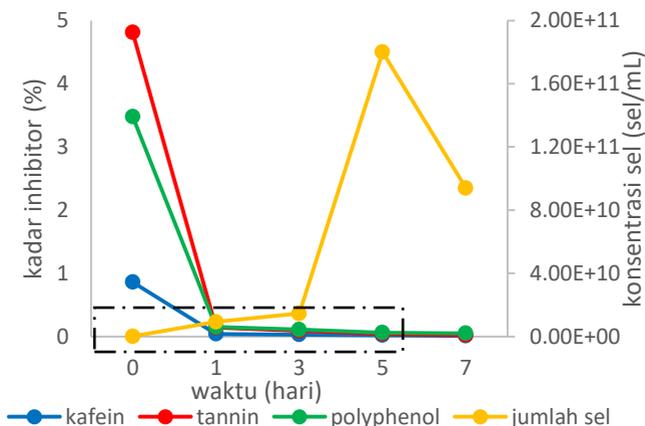


**Grafik 4.7 Hubungan antara kadar zat inhibitor dan kenaikan konsentrasi sel terhadap waktu pada rasio *P.putida*: *T.harzianum*: *A.niger* = 1:1:2**

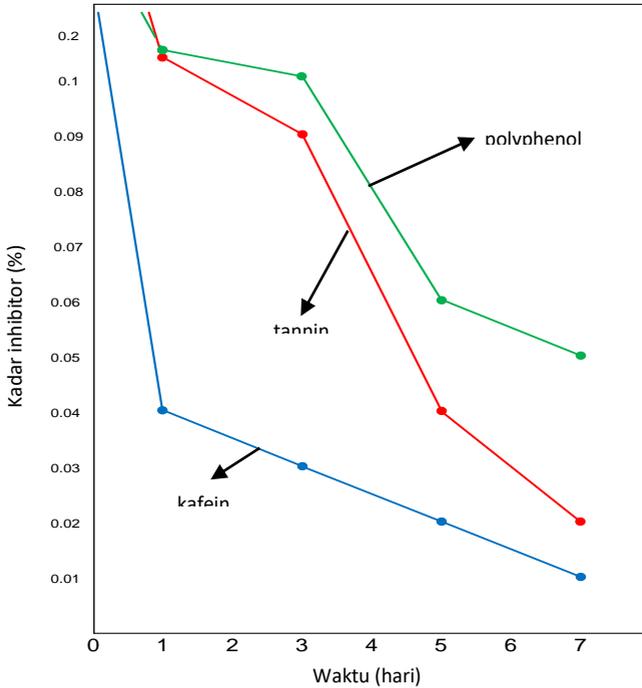


**Grafik 4.8 Perbesaran grafik 4.7  
Skala range 0.01-0.2%**

Dapat dilihat pada grafik 4.7 menunjukkan bahwa kafein mengalami penurunan dari 0.86% sampai 0.02%, tannin dari 4.81% sampai 0.04%, demikian pula dengan polyphenol mengalami penurunan dari 3.48% sampai 0.03%. Pada hari 1, grafik langsung mengalami penurunan kadar zat inhibitor seperti pada variabel-variabel sebelumnya. Penurunan kadar inhibitor pada variabel ini lebih sedikit daripada variabel 1:2:1. Hal tersebut disebabkan, karena perbedaan jumlah dari mikroorganisme yang masuk. Pada variabel ini mikroba yang dominan yaitu *Aspergillus niger*. Menurut Albert C, 2013 bahwa *Aspergillus niger* hanya mampu berperan aktif dalam mendegradasi polyphenol menjadi pyrogallol

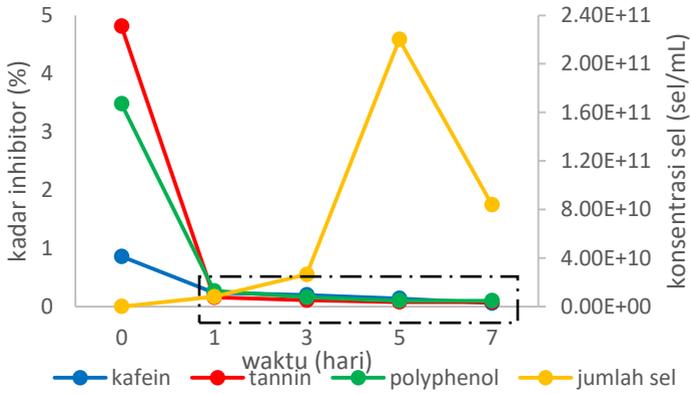


**Grafik 4.9 Hubungan antara kadar zat inhibitor dan kenaikan konsentrasi sel terhadap waktu pada rasio *P.putida*: *T.harzianum*: *A.niger* = 2:1:1**

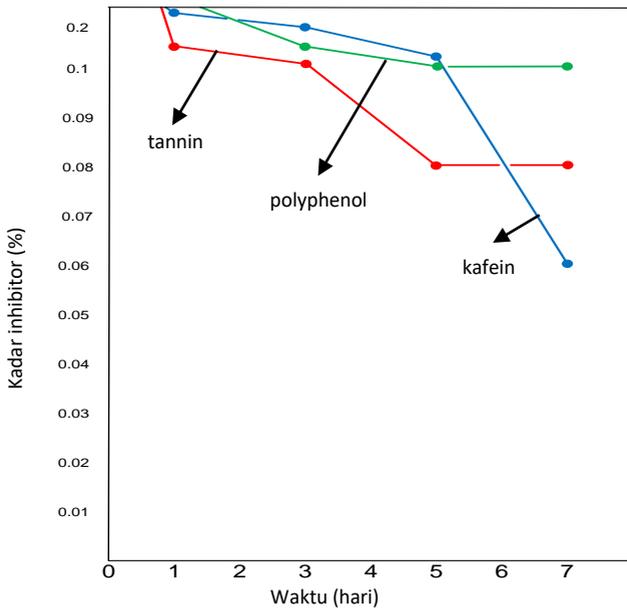


**Grafik 4.10 Perbesaran grafik 4.9**  
**Skala range 0.01-0.2%**

Pada grafik 4.9 hingga 4.10, dapat dilihat bahwa kafein mengalami penurunan dari 0.86% sampai 0.01%, tannin dari 4.81% sampai 0.02%, demikian pula dengan polyphenol mengalami penurunan dari 3.48% sampai 0.05%. Pada hari 1, grafik langsung mengalami penurunan kadar zat inhibitor seperti pada variabel-variabel sebelumnya. Pada variabel ini mikroba yang dominan yaitu *Pseudomonas putida*. Menurut Mazzafera P, 2002 mikroorganisme yang dapat mendegradasi kafein adalah *Pseudomonas putida*. Bakteri tersebut memecah kafein menjadi xanthine.

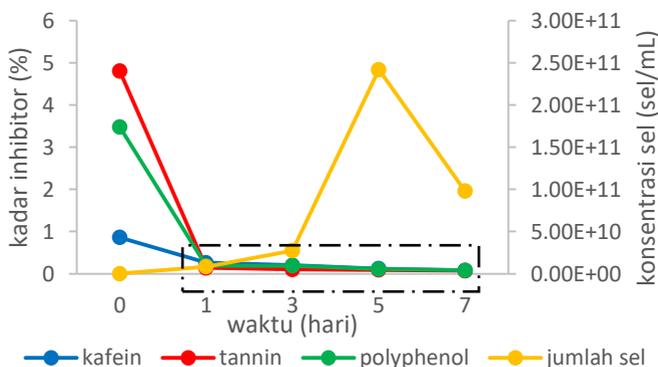


**Grafik 4.11 Hubungan antara Penurunan kadar zat inhibitor terhadap waktu dan kenaikan jumlah sel variabel 2:2:1**

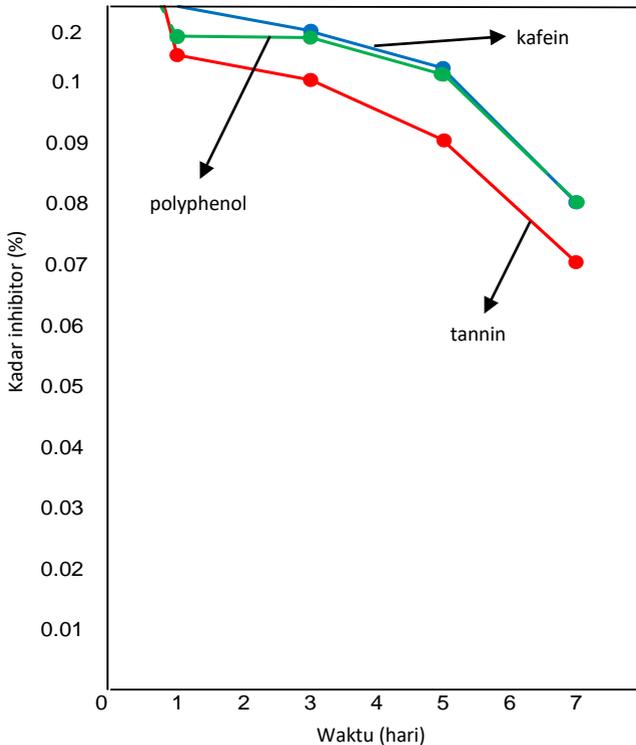


**Grafik 4.12 Perbesaran grafik 4.11 Skala range 0.01-0.2%**

Pada hari 1, grafik langsung mengalami penurunan kadar zat inhibitor seperti pada variabel-variabel sebelumnya. Untuk variabel diatas, menunjukkan bahwa kafein mengalami penurunan dari 0.86% sampai 0.06%, tannin dari 4.81% sampai 0.08%, demikian pula dengan polyphenol mengalami penurunan dari 3.48% sampai 0.1%. Pada variabel ini mikroba yang dominan yaitu *Pseudomonas putida*. Mikroorganisme yang dapat mendegradasi kafein adalah *Pseudomonas putida* dan *Trichoderma harzianum*. Bakteri *Pseudomonas putida* tersebut memecah kafein menjadi xanthine. *Trichoderma harzianum* yang mampu mengubah tannin menjadi asam galat.

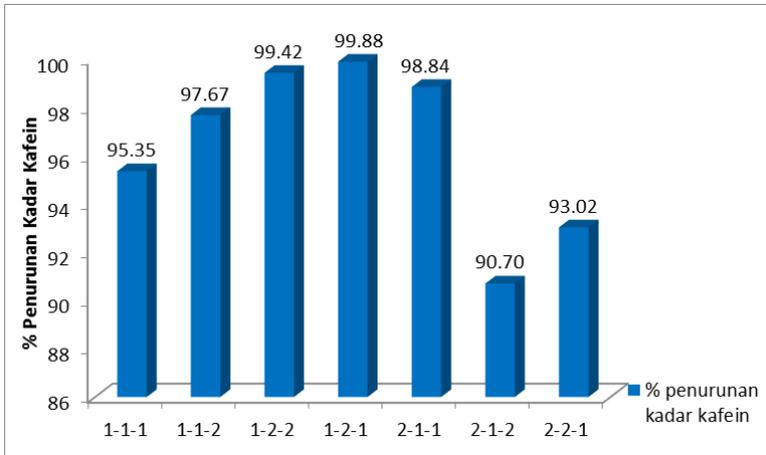


**Grafik 4.13 Hubungan antara kadar zat inhibitor dan kenaikan konsentrasi sel terhadap waktu pada rasio *P.putida*: *T.harzianum*: *A.niger* = 2:1:2**



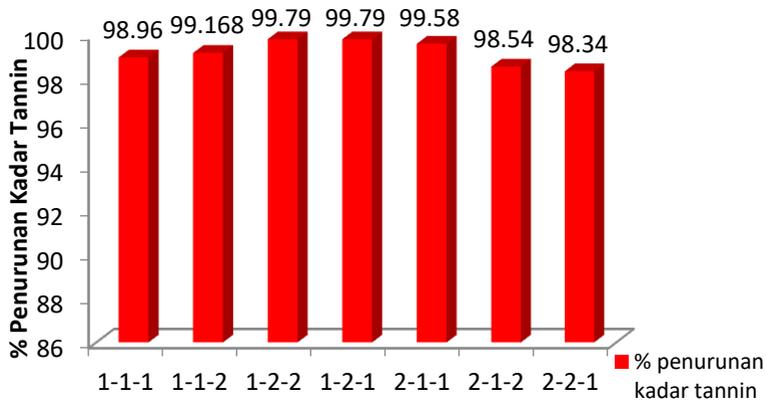
**Grafik 4.14 Perbesaran grafik 4.13**  
**Skala range 0.01-0.2%**

Pada grafik 4.13 dan 4.14 diatas, menunjukkan bahwa kafein mengalami penurunan dari 0.86% sampai 0.08%, tannin dari 4.81% sampai 0.07%, demikian pula dengan polyphenol mengalami penurunan dari 3.48% sampai 0.08%. Pada hari 1, grafik langsung mengalami penurunan kadar zat inhibitor seperti pada variabel-variabel sebelumnya. Pada variabel ini mikroba yang dominan yaitu *Pseudomonas putida* dan *Aspergillus niger*. Mikroorganisme yang dapat mendegradasi kafein adalah *Pseudomonas putida*. Bakteri tersebut memecah kafein menjadi xanthine. Dan *Aspergillus niger* merubah phenol menjadi pyrogallol.



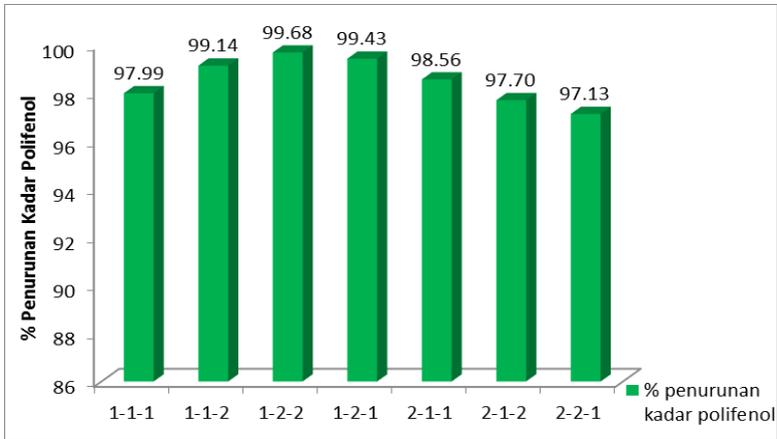
**Grafik 4.15 Hasil Penurunan Kadar Kafein (%) pada Berbagai Ratio Penambahan *P.putida*: *T.harzianum*: *A.niger***

Pada grafik 4.15 menunjukkan penurunan kadar kafein pada berbagai variabel. Dari data diatas didapatkan persen penurunan pada variabel berturut-turut adalah variabel 1:1:1 sebesar 95.34%, 1:1:2 sebesar 97.67%, 1:2:2 sebesar 99.42%, 1:2:1 sebesar 99.88%. 2:1:1 sebesar 98.84%, 2:2:1 sebesar 93.02%, dan 2:1:2 sebesar 90.69%. Sehingga, didapatkan persen penurunan terbaik pada variabel 1:2:1. Penurunan kadar kafein lebih kecil pada penambahan *Pseudomonas putida* dengan ratio 2 dibandingkan penambahan *Pseudomonas putida* dengan ratio 1. Perbedaan tersebut dikarenakan bahwa semakin banyak konsentrasi mikroba yang ada, membuat kinerja *Pseudomonas putida* tidak maksimal. Hal ini dikarenakan bahwa hasil samping dari pendegradasian tannin membentuk asam sitrat yang membuat pH dalam reaktor menurun, sehingga berakibat pada kinerja *Pseudomonas putida*.



**Grafik 4.16 Hasil Penurunan Kadar Tannin (%) pada Berbagai Ratio Penambahan *P.putida*: *T.harzianum*: *A.niger***

Pada grafik 4.16 menunjukkan penurunan kadar tannin pada berbagai variabel. Dari data diatas didapatkan persen penurunan terbaik pada variabel 1:2:2 dan variabel 1:2:1 yaitu sebesar 99.79%. Hal tersebut disebabkan bahwa *Trichoderma harzianum* pada 2 variabel tersebut memiliki ratio yang sama. *Trichoderma harzianum* memang memiliki kemampuan dalam mendegradasi tannin menjadi asam galat (Tej K. Bhat, 1998). Sehingga, mikroorganisme tersebut sangat efektif dalam mendegradasi tannin.

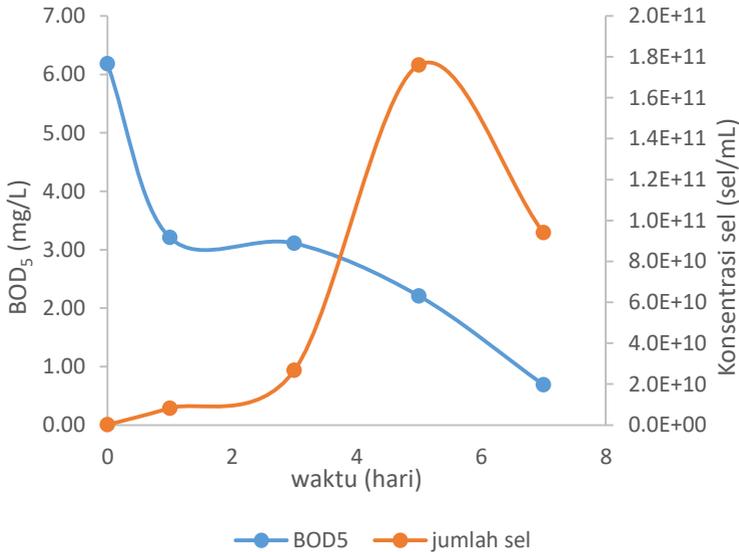


**Grafik 4.17 Hasil Penurunan Kadar Polifenol (%) pada Berbagai Ratio Penambahan *P.putida*: *T.harzianum*: *A.niger***

Pada grafik 4.17 menunjukkan penurunan kadar polyphenol pada berbagai variabel. Dari data diatas didapatkan persen penurunan terbaik pada variabel 1:2:2 yaitu sebesar 99.68%. Hal tersebut disebabkan bahwa jumlah dari *Aspergillus niger* sangat banyak dan *Aspergillus niger* sendiri memiliki kemampuan dalam mendegradasi phenol menjadi pyrogallol (Albert C, 2013).

Dapat dilihat juga bahwa semakin turunnya kadar zat inhibitor seperti kafein, tannin, dan polyphenol juga diiringi dengan meningkatnya pertumbuhan mikroorganismenya. Hal tersebut menandakan bahwa mikroorganismenya mampu mendegradasi zat inhibitor, sehingga mampu untuk beradaptasi dan bertahan hidup. Pada hari 1 semua grafik langsung mengalami penurunan yang drastis dikarenakan mikroorganismenya yang diumpankan ke dalam reaktor berada pada fase log dimana, fase ini merupakan fase perkembangan yang aktif bagi mikroorganismenya. Sehingga, pada hari kedua dan seterusnya jumlah mikroorganismenya menjadi meningkat karena hasil pertumbuhan mikroorganismenya tersebut. Menurut Afriani dan Lukman (2011), beberapa faktor yang dibutuhkan untuk mikroorganismenya tumbuh adalah kebutuhan sumber karbon, sumber nitrogen, dan air untuk fungsi metabolik

dan pertumbuhan. Hal ini juga ditunjang dengan penurunan nilai BOD terhadap kenaikan konsentrasi sel terhadap waktu (grafik 4.18).



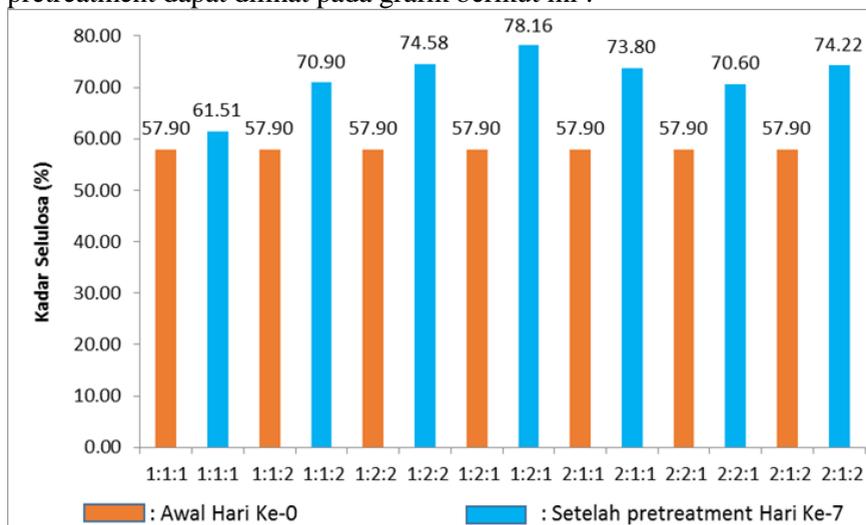
**Grafik 4.18 Hubungan antara Penurunan BOD<sub>5</sub> dan kenaikan konsentrasi sel untuk variabel P.putida : T.harzianum : A.niger = 1:2:1 Terhadap Waktu (hari)**

Dapat dilihat pada grafik 4.18 bahwa terjadi penurunan BOD yang diiringi dengan meningkatnya konsentrasi sel. Hal tersebut terjadi dikarenakan mikroorganisme membutuhkan bahan organik sebagai sumber energi untuk bertahan hidup. Nilai BOD itu menyatakan banyaknya oksigen yang dibutuhkan mikroorganisme untuk mendegradasi bahan organik, sehingga semakin rendah kebutuhan oksigen maka, semakin sedikit jumlah bahan organik yang akan didegradasi. Penurunan kadar BOD yang terjadi kemungkinan disebabkan adanya konversi senyawa organik menjadi gas H<sub>2</sub>O, CO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub> dan CH<sub>4</sub> (Budhi dkk., 1999).

Selain parameter penurunan kadar zat inhibitor, pada hari ke-7 sampel kulit kopi hasil pretreatment juga diuji kadar selulosanya untuk melihat peningkatan kadar selulosanya sebelum dan sesudah di treatment. Hasil analisa menunjukkan bahwa ada kenaikan kadar selulosa dari semula 57.9% menjadi 78.16%. Peningkatan kadar selulosa bisa juga dipengaruhi oleh pecahnya lignin, dikarenakan terdapat dua mikroorganisme (*Trichoderma harzianum* dan *Aspergillus niger*) yang bisa memecah struktur lignin. Karena, *Trichoderma harzianum* dan *Aspergillus niger* tersebut memiliki kemampuan untuk menguraikan struktur lignin ( YB Subowo, 2013).

## IV.2 Pembuatan Biogas

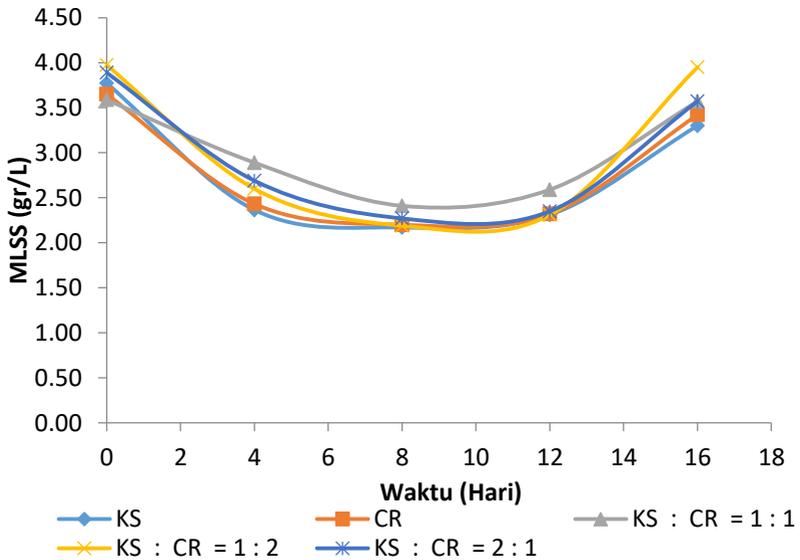
Selulosa memegang peranan penting pada pembuatan biogas. Selulosa dapat diubah menjadi gas metana dengan bantuan mikroorganisme. Kandungan selulosa pada setiap variabel pretreatment dapat dilihat pada grafik berikut ini :



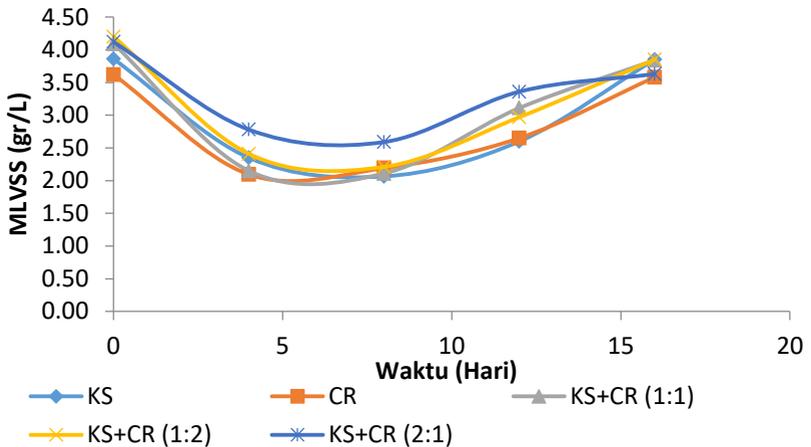
**Grafik 4.19** Kadar selulosa pada berbagai variabel pada hari ke-0 dan hari ke-7

Pada grafik 4.19 menunjukkan bahwa pada hari ke-0 selulosa yang semua variabel menunjukkan kadar selulosa sebesar 57.90%. Namun pada hari ke-7, selulosa pada variabel P.putida : T.harzianum : A.niger = 1:2:1 (v:v:v) lebih tinggi dibanding dengan variabel lainnya. Pada variabel 1:2:1, kadar selulosa yang terbentuk pada hari ke-7 sebesar 78.16%. Pretreatment yang terbaik pada variabel 1:2:1, selanjutnya digunakan untuk pembuatan biogas dengan penambahan starter berupa kotoran sapi dengan cairan rumen.

#### IV.2.1 Hubungan MLSS dan MLVSS dengan Waktu Fermentasi Anaerobik Pada



**Grafik 4.20 Hubungan MLSS terhadap Waktu Fermentasi Anaerobik pada Berbagai Ratio KS (kotoran sapi) : CR (cairan rumen)**



**Grafik 4.21 Hubungan MLVSS terhadap Waktu Fermentasi Anaerobik pada Berbagai Ratio KS (kotoran sapi) : CR (cairan rumen)**

Pada penelitian ini dilakukan fermentasi kulit kopi yang sudah ditreatment dengan menggunakan variable kotoran sapi dan cairan rumen dalam reaktor anaerobik dengan sistem batch. MLSS dan MLVSS dilakukan sebagai salah satu analisa yang dilakukan dalam penelitian ini. Analisa MLSS dan MLVSS dilakukan setiap 4 hari sekali selama proses anaerobic digestion dengan mengambil cairan dan substrat didalam reaktor.

Pada grafik 4.20 dan 4.21, didapatkan nilai penurunan MLSS dan MLVSS berturut-turut pada masing-masing variable adalah KS sebesar 12.536% dan 0.26%, CR sebesar 6.3014% dan 1.10%, KS : CR (1:1) sebesar 0.5017% dan 6.11%, KS : CR (1:2) sebesar 0.6039% dan 8.33% dan KS : CR (2:1) sebesar 8.226% dan 11.89%. Dari data tersebut diperoleh bahwa campuran kotoran sapi dan rumen dengan perbandingan 1:2 menunjukkan persentase penurunan nilai MLSS dan MLVSS yang tertinggi.

Dapat dilihat bahwa nilai MLSS dan MLVSS pada feed dengan semua variable mengalami penurunan. Pada hari ke 0 sampai dengan hari ke 8 mengalami penurunan. Penurunan ini disebabkan karena mikroorganismenya mengalami fase adaptasi

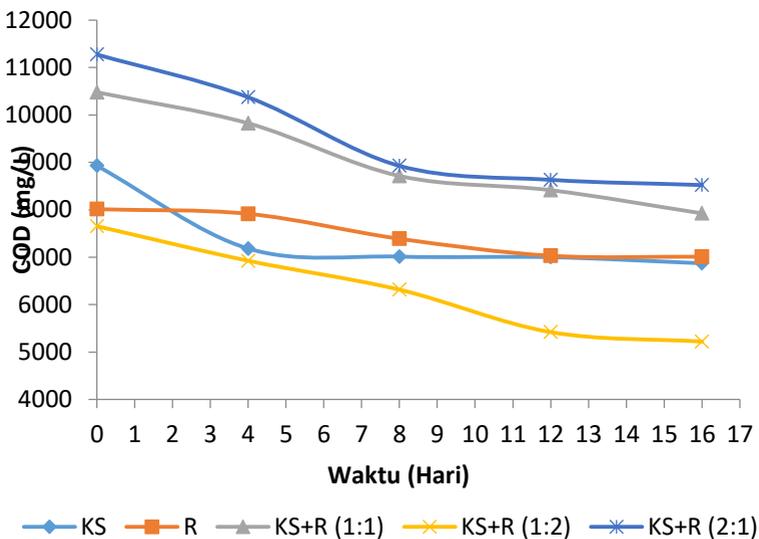
dengan lingkungan baru dan penurunan ini menunjukkan awal proses anaerobik digestion yang dikarenakan oleh terjadinya proses degradasi senyawa organik yang lebih sederhana. Menurut Jun Cheng, 2010, penurunan MLSS dan MLVSS disebabkan karena pertumbuhan sel mikroorganisme meningkat yang didukung oleh persediaan nutrient dalam reaktor yang cukup, sehingga mikroorganisme mampu mendegradasi senyawa organik seperti selulosa yang kemudian diubah menjadi glukosa dan xylosa sebagai sumber karbon organik untuk pertumbuhan mikroba.

Pada hari ke 8 sampai hari ke 16, nilai MLSS dan MLVSS mulai mengalami peningkatan. Hal ini dikarenakan mikroorganisme mulai menunjukkan fase log dan konsentrasi mikroorganisme dalam reaktor mulai meningkat. Mikroorganisme yang meningkatkan mengindikasikan bahwa biogas mulai terbentuk yang dimulai dari pembentukan gas  $\text{CO}_2$  dan dilanjutkan pembentukan gas  $\text{CH}_4$ .

#### **IV.2.2 Hubungan Nilai COD dan Produksi Biogas Terhadap Waktu Fermentasi Anaerobik Pada Berbagai Variabel Dalam Reaktor**

Chemical Oxygen Demand (COD) atau kebutuhan oksigen kimiawi menggambarkan jumlah oksigen yang dibutuhkan untuk mengoksidasi bahan organik secara kimiawi, baik yang dapat didegradasi secara biologis maupun yang sulit didegradasi secara biologis menjadi  $\text{CO}_2$  dan  $\text{H}_2\text{O}$  (Boyd, 1998).

Analisa COD pada penelitian ini dilakukan setiap 4 hari sekali. Adapun hasil analisa COD untuk setiap variabel ditunjukkan pada grafik berikut ini :

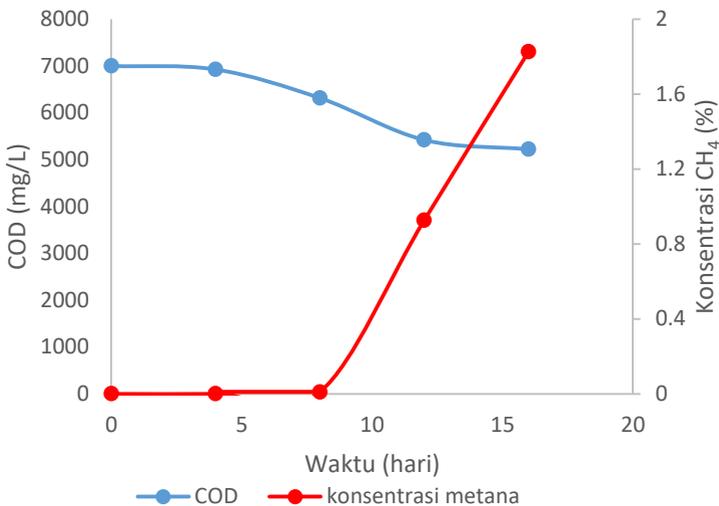


**Grafik 4.22 Hubungan antara Perubahan nilai COD (%) pada Berbagai Ratio KS (kotoran sapi) : CR (cairan rumen) terhadap Waktu (hari)**

Limbah kulit kopi yang digunakan sebagai substrat memiliki nilai COD sekitar 7000 mg/L (Novita E, 2015). Perbedaan nilai COD pada hari ke-0 disebabkan oleh perbedaan dalam penambahan kotoran sapi dan cairan rumen ke dalam substrat. Penambahan kotoran sapi dan cairan rumen ke dalam substrat dapat meningkatkan nilai COD, karena di dalam kotoran sapi dan cairan rumen mengandung bahan-bahan organik, sehingga dapat memperbesar kadar COD dalam substrat (Vegantara A. D, 2009)

Pada grafik 4.22 menunjukkan bahwa nilai COD mengalami penurunan mulai hari ke 0 hingga hari ke 15. Persentase penurunan COD pada substrat kulit kopi untuk masing-masing variabel adalah KS sebesar 21.57%, R sebesar 12.24%, KS+R (1:1) sebesar 19.69%, KS+R (1:2) sebesar 23.44%, dan KS+R (2:1) sebesar 22.55%. Presentase penurunan paling tinggi ada pada variabel campuran kotoran sapi dan rumen dengan

perbandingan 1 : 2. Hal ini dikarenakan mikroorganismenya di dalam cairan rumen lebih banyak dan lebih spesifik dalam mendegradasi bahan organik menjadi  $\text{CH}_4$ . Feed yang difermentasi dalam reaktor mengalami degradasi akibat adanya aktivitas mikroba didalamnya yang ditunjukkan pada penurunan signifikan pada grafik MLSS dan MLVSS. Adanya penurunan nilai COD ini mengidentifikasi bahwa produk biogas mulai terbentuk. Hal tersebut dapat dilihat pada grafik 4.22 menunjukkan hubungan antara penurunan COD dengan gas  $\text{CH}_4$  yang terbentuk.



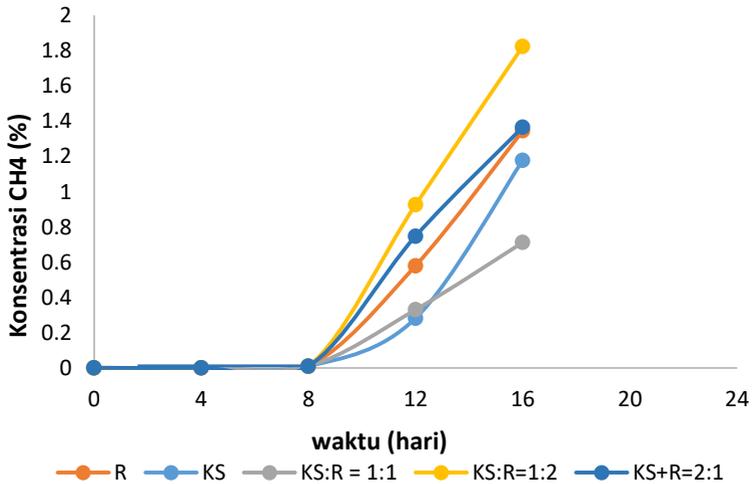
**Grafik 4.23 Hubungan antara Penurunan COD (mg/L) dan Konsentrasi  $\text{CH}_4$  (%) yang Terbentuk terhadap Waktu Fermentasi (hari)**

Pada grafik 4.23 dapat dilihat bahwa nilai COD semakin menurun seiring dengan kenaikan konsentrasi gas  $\text{CH}_4$ . Hal tersebut dikarenakan beban bahan organik dalam feed yang difermentasikan didalam reaktor mengalami degradasi. Pendegradasian bahan organik menandakan bahwa biogas terbentuk. Biogas dihasilkan dari proses anaerobik senyawa

organik kompleks, seperti lipid polisakarida, protein, lemak, asam nukleat dan lain sebagainya (Yadvika dkk, 2004).

#### IV.2.3 Analisa Biogas ( $\text{CH}_4$ )

Dalam menganalisa kandungan pada sampel biogas yang terbentuk menggunakan Gas Chromatography (GC). Analisa kandungan biogas dilakukan selama 4 hari sekali.



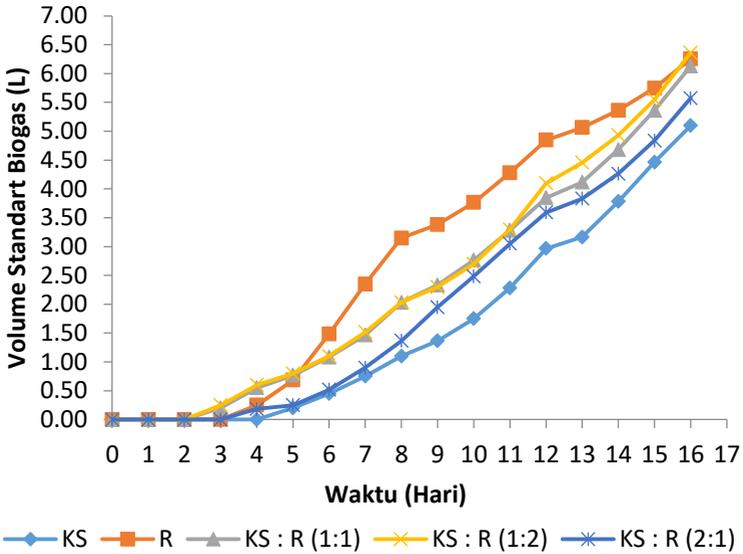
**Grafik 4.24 Hubungan antara Kenaikan konsentrasi  $\text{CH}_4$  (%) terhadap Waktu**

Pada grafik 4.24 menunjukkan pembentukan gas metana terhadap lamanya waktu fermentasi anaerob. Didapatkan kenaikan konsentrasi gas metana pada hari ke 16 berturut-turut di masing-masing variabel adalah KS sebesar 1.178%, R sebesar 1.346%, KS+R (1:1) sebesar 0.712%, KS+R (1:2) sebesar 1.825%, KS+R (2:1) sebesar 1.366%. Dari data tersebut didapatkan kadar  $\text{CH}_4$  tertinggi pada variabel KS+R (1:2). Hal tersebut disebabkan mikroorganisme utama (*Ruminococcus sp*) pada cairan rumen lebih banyak dan lebih spesifik dalam mendegradasi selulosa dan bahan organik menjadi  $\text{CH}_4$  (Takenaka, 2008) daripada kotoran sapi. Pada kotoran sapi

jumlah bakteri *Ruminococcus* sp hanya terdapat 3.57% dari total populasi yang ada pada kotoran sapi, bakteri tersebut berada dalam jumlah yang sedikit daripada jumlah bakteri lainnya (Alfa dkk, 2014).

Pada hari ke 0 sampai dengan hari ke 8 dapat dilihat di semua variabel belum terbentuk gas metana. Hal ini disebabkan mikroorganisme yang ada pada kotoran sapi dan cairan rumen masih beradaptasi dengan lingkungan yang didalamnya terdapat zat beracun seperti kafein, tannin, dan polyphenol yang berasal dari substratnya yaitu kulit kopi (Corro, 2013). Selain itu, belum terbentuknya biogas didalam reaktor juga disebabkan masih terjadinya tahap hidrolisis dan asidogenesis (Yadvika dkk, 2004). Pada penelitian sebelumnya (Corro, 2013) menggunakan kulit kopi terbentuknya gas metana pada 1 bulan waktu fermentasi dengan kadar gas metana yang terbentuk masih sangat kecil sekali dan memerlukan waktu selama 8 bulan untuk mendapatkan kadar gas metana konstan 60%. Dengan dilakukannya pretreatment secara biologis pada kulit kopi, didapatkan hasil %CH<sub>4</sub> sebesar 1.825% dalam waktu 16 hari fermentasi. Hal ini menunjukkan peningkatan yang telah dilakukan oleh penelititan sebelumnya yang menggunakan kulit kopi tanpa pretreatment untuk menghasilkan biogas.

Rendahnya kadar CH<sub>4</sub> yang didapatkan sangat kecil yaitu 1.825%. Lambatnya pembentukan CH<sub>4</sub> dipengaruhi oleh kondisi dari starter yang ditambahkan. Pada starter yang difermentasi dalam waktu 5 hari tersebut ternyata masih belum menghasilkan CH<sub>4</sub>. Sehingga saat starter dimasukkan ke dalam reaktor, starter akan beradaptasi kembali dengan substrat yang digunakan didalam reaktor. Hal itu membuat pembentukan CH<sub>4</sub> semakin lama. Maka, pada hari ke 16 masih mendapatkan nilai kadar CH<sub>4</sub> yang sangat kecil.



**Grafik 4.25 Hubungan Volume Akumulasi Biogas terhadap Waktu (hari) pada Berbagai Ratio Penambahan KS (Kotoran Sapi): CR(Cairan Rumen)**

Pada grafik 4.25 menunjukkan nilai produksi biogas (L/hari) pada masing-masing variabel mengalami peningkatan pada setiap harinya. Pada hari ke 0 sampai dengan hari ke 4 dapat dilihat di semua variabel belum terbentuk biogas. Hal ini dikarenakan mikroorganismenya yang ada pada kotoran sapi dan cairan rumen masih beradaptasi dengan lingkungan yang didalamnya terdapat zat beracun seperti kafein, tannin, dan polyphenol yang berasal dari substratnya yaitu kulit kopi yang dapat menghambat tahap hidrolisis (Corro, 2013).

Setelah hari ke 4, semua variabel mulai menghasilkan biogas. Untuk hasil volume biogas pada hari ke 16 yaitu pada variabel KS sebesar 4.61 liter/hari, R sebesar 5.68 liter/hari, KS:R (1:1) sebesar 5.12 liter/hari, KS:R (1:2) sebesar 5.71 liter/hari, dan KS:R (2:1) sebesar 4.86 liter/hari. Dari data tersebut didapatkan volume akumulasi biogas terbanyak pada variabel

KS:R (1:2). Sehingga, dapat dihitung  $\text{CH}_4$  yang dihasilkan sebesar  $0.0032 \text{ m}^3/\text{kg}$  COD yang terkonversi.

Terbentuknya  $\text{CH}_4$  tersebut terjadi karena, adanya penurunan bahan organik akibat terkonversinya menjadi metana. Penurunan yang terjadi pada grafik COD (grafik 4.22) yang menandakan bahwa mikroba beraktifitas sangat cepat dalam menguraikan bahan organik. Dapat dilihat pula bahwa semakin lama waktu fermentasi volume biogas yang terbentuk cenderung meningkat. Peningkatan ini disebabkan bahwa masih banyak sumber bahan organik masih belum teruraikan oleh mikroorganisme di dalam reaktor yang nantinya akan dikonversi menjadi gas metana pada tahap metanogenesis (Yadvika dkk, 2004).

#### **IV.2.4 Heating Value**

Nilai panas (nilai pembakaran) atau HV (Heating Value) adalah jumlah panas yang dikeluarkan oleh bahan bakar bila bahan bakar tersebut dibakar. Dalam pengukuran nilai heating value pada biogas, komposisi gas sangat mempengaruhi heating value terutama gas metana, semakin tinggi komposisi gas metana maka heating value yang didapatkan akan semakin tinggi. Adapun Heating Value pada masing-masing variabel dapat dilihat pada table 4.2:

**Tabel 4.2 Nilai Heating Value pada Berbagai Variabel Dalam Reaktor Biogas**

Waktu (Hari)	KS			R			KS : R (1:1)		
	LHV (BTU/ft <sup>3</sup> )	Densitas (lb/ft <sup>3</sup> )	LHV (kcal/kg)	LHV (BTU/ft <sup>3</sup> )	Densitas (lb/ft <sup>3</sup> )	LHV (kcal/kg)	LHV (BTU/ft <sup>3</sup> )	Densitas (lb/ft <sup>3</sup> )	LHV (kcal/kg)
4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
12	2.293	0.123	10.378	5.069	0.122	23.032	2.715	0.123	12.319
16	10.795	0.122	49.247	12.247	0.122	55.933	6.297	0.122	28.633

Waktu (Hari)	KS : R (1:2)			KS : R (2:1)		
	LHV (BTU/ft <sup>3</sup> )	Densitas (lb/ft <sup>3</sup> )	LHV (kcal/kg)	LHV (BTU/ft <sup>3</sup> )	Densitas (lb/ft <sup>3</sup> )	LHV (kcal/kg)
4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
12	8.253	0.122	37.588	6.608	0.122	30.061
16	16.595	0.121	76.032	8.496	0.122	38.808

Dari tabel 4.2 dapat dilihat bahwa reaktor yang menggunakan kulit kopi hasil pretreatment terbaik dengan variabel kotoran sapi : cairan rumen 1:2 menghasilkan biogas dengan kadar gas metana terbesar yaitu sebesar 1.825%. Untuk Heating Value biogas paling tinggi juga berada pada reaktor dengan variabel kotoran sapi : cairan rumen 1:2 dengan nilai heating value sebesar 76.032 kcal/kg pada hari ke-16. Tingginya nilai heating value ini sangat dipengaruhi kadar metana dalam biogas, semakin besar kadar metana semakin besar pula nilai heating valuenya.

# BAB V

## KESIMPULAN DAN SARAN

### V.1 KESIMPULAN

Berdasarkan data dan hasil analisa pada penelitian ini, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Pretreatment yang dilakukan secara biologi menggunakan bantuan mikroorganisme mampu mendegradasi zat inhibitor yang ada pada kulit kopi dengan ratio penambahan *Pseudomonas putida*: *Trichoderma harzianum*: *Aspergillus niger* sebesar 1:2:1 yang paling baik dalam mendegradasi komponen tersebut. Pada variabel 1:2:1 penurunan kadar zat inhibitor (%) sebesar 99.8% untuk kafein, 99.7% untuk tannin, 99.4% untuk polyphenol.
2. Biogas dengan konsentrasi metana tertinggi dihasilkan pada variabel campuran antara kotoran sapi dan cairan rumen (1:2) sebesar 1.825% dengan lama waktu fermentasi 16 hari. Nilai kalor tertinggi didapatkan saat komposisi metana tertinggi yaitu 1.825% pada variabel kotoran sapi: cairan rumen = 1:2 yaitu 76.032 kcal/kg.
3. Biogas yang dihasilkan dengan pretreatment lebih cepat terbentuk menghasilkan gas metana sebesar 1.825% dalam waktu 16 hari dibandingkan dengan biogas yang dihasilkan pada penelitian sebelumnya (Corro, 2013) yang mendapatkan konsentrasi gas metana  $\pm 2\%$  selama 1 bulan.

## **V.2 SARAN**

Karena keterbatasan waktu fermentasi, diharapkan pada penelitian selanjutnya fermentasi dilakukan lebih lama untuk mendapatkan kadar metana lebih tinggi dan mencapai grafik dengan kadar metana secara konstan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdillah, Jaka, Mahadin R.G, 2011, "Natrium Hidroksida (NaOH) sebagai Hidrolisa Basa dalam *Pretreatment* Produksi Biogas dengan Bahan Baku Eceng Gondok", Jurusan Teknik Kimia. Fakultas Teknologi Industri. Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya. Skripsi.
- Bardiya, N., Gaur, A.C., 1997, "Effects of Carbon and Nitrogen Ratio on Rice Straw Biomethanation", J. Rural Energy.
- Corro, G., Panigua, L., Pal, U., Banuelos, F., Rosas, M., 2013, "Generation of Biogas from Coffe Pulp and Cow-Dung Co-Digestion: Infrared studies of postcombustio emission", Energy Conversion and Management.
- Chynoweth, D.P., Haley, P., Owens, J., Teixeira, A., Townsend, T., Xu, Q., Choi, H.I., 2003, Anaerobic Composting for Recovery of Nutrients, Compost, and Energy from Solid Waste During Space Mission, In: Pullammanappallil, P., Mc Comb. A. Diaz, L.F., Bidlingmaier, W. (eds), Proceedings of The Fourth International Conference of ORBIT Association of Biological Processing of Organics, ORBIT, Perth, Australia.
- Dowd, S.E., Callaway, T.R., Wolcott, R.D., Sun, Y., McKeehan, T., Hagevoort, R.G., Edrington, T.S., 2008, "Evaluation of The Bacterial Diversity in The Feces of Cattle Using 16S rDNA Bacterial Tag-Encoded FLX Amplicon Pyrosequencing (b TEFAP)", *BMC Microbiology*, BioMed Central Ltd.
- Erwanto, Jefri, Hastari, Indira Tri, 2016, "Studi Perbandingan Produksi Biogas Menggunakan Feses sapi , Cairan

rumen dan feses luwak pada co-digestion. Jurusan Teknik Kimia. Fakultas Teknologi Industri. Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya. Skripsi.

Krastanov,A., Alexieva, Z., Yemendzhiev, H., 2013, “ Microbial Degradation Of Phenol And Phenolic Derivatives”, Engineering in Life Sciences, 13, 76-87, <http://els-journal.com/>.

Mazzafera, Paulo,2002, “Degradation of Caffeine By Microorganisms And Potential Use Of Decaffeinated Coffee Husk and Pulp In Animal Feeding”, Scientia Agricola.

Schie, Paula M Van , 1998, “Isolation and Characterization of Phenol-Degrading Denitrifying Bacteria”, Biotechnology Center for Agriculture and the Environment and Departement of Enviromental Sciences, Rutgers.

Summers, M.Ryan., Mohanty, S.K, Goplschetty, S., Subramanian, M., 2015, “Genetic Characterization Of Caffeine Degradation By Bacteria And Its Potential Applications”, Microbial Biotechnology.

Takeneka, A., 2008, “The Properties of Rumen Microorganism And Their Contribution to Methane Production”, *National Institute of Livestock and Grassland Science*, Japan. Technol.

Tej K.Bhat, S.Bhupinder, O.P. Sharma, 1998, “ Microbial Degradation Of Tannin- A Current Prespective”, Regional Station, Indian Veterinary Research Institute Palampur, Biodegradation.

Thomas, Richard J, 1975, “The Effect of Polyphenol Extraction On Enzyme Degradation Of Bordered Pit Tori”,

Profesor of Wood and Paper Science and Botany,  
North California State University.

Wellinger, A., 2009, "Gas Upgrading Issues", European Biomethane Fuel Conference, Gotenborg, Sweden, September, 2009, <http://www.biogasmax.eu/>.

Yadvika, Santosh, Sreekishnan T.R., Kohli, S., Rana, V., 2004, "Enhancement of Biogas Production from Solid Substrates Using Different Technique-A Review", Bioresource Technology.

**APPENDIX A**  
**HASIL PENGAMATAN DAN PERHITUNGAN**  
**1. Hasil analisa kandungan kafein, tannin, dan polyphenol**  
**pada variabel pre-treatment**

**Tabel A-1 Hasil analisa kandungan kafein, tannin, polyphenol**  
**dan selulosa pada variabel *pre-treatment***

Variabel	Hari	% Kadar			
		Kafein	Tanin	Poliphenol	Selulosa
1 : 1 : 1	0	0.86	4.81	3.48	57.90
	1	0.21	0.15	0.22	
	3	0.17	0.12	0.2	
	5	0.13	0.11	0.13	
	7	0.04	0.05	0.07	
1 : 1 : 2	0	0.86	4.81	3.48	57.90
	1	0.08	0.22	0.11	
	3	0.04	0.11	0.08	
	5	0.02	0.04	0.03	
	7	0.02	0.04	0.03	
1 : 2 : 2	0	0.86	4.81	3.48	57.90
	1	0.02	0.11	0.04	
	3	0.02	0.08	0.03	
	5	0.01	0.03	0.03	
	7	0.005	0.01	0.011	
1 : 2 : 1	0	0.86	4.81	3.48	57.90
	1	0.03	0.09	0.08	
	3	0.02	0.06	0.06	
	5	0.01	0.03	0.05	
	7	0.001	0.01	0.02	
2 : 1 : 1	0	0.86	4.81	3.48	57.90
	1	0.04	0.14	0.15	
	3	0.03	0.09	0.11	
	5	0.02	0.04	0.06	
	7	0.01	0.02	0.05	

2 : 2 : 1	0	0.86	4.81	3.48	57.90
	1	0.24	0.16	0.27	
	3	0.2	0.11	0.16	
	5	0.14	0.08	0.1	
	7	0.06	0.08	0.1	
2 : 1 : 2	0	0.86	4.81	3.48	57.90
	1	0.26	0.14	0.19	
	3	0.2	0.1	0.19	
	5	0.12	0.09	0.11	
	7	0.08	0.07	0.08	

## 2. Hasil perhitungan persen degradasi kafein, tanin, polifenol pada variabel *pre-treatment*

Contoh perhitungan kadar untuk variabel 1:1:1

% Degradasi Kafein = (% Kafein Hari ke 0 - % Kafein Hari ke 7) / % Kafein Hari ke 0

$$= (0.86 - 0.04) / 0.86$$

$$= 95.34 \%$$

% Degradasi Tanin = (% Tanin Hari ke 0 - % Tanin Hari ke 7) / % Tanin Hari ke 0

$$= (4.81 - 0.05) / 4.81$$

$$= 98.96 \%$$

% Degradasi Poliphenol = (% Poliphenol Hari ke 0 - % Poliphenol Hari ke 7) / % Poliphenol Hari ke 0

$$= (3.48 - 0.07) / 3.48$$

$$= 97.99 \%$$

**Tabel A-2 Hasil perhitungan persen degradasi kafein, tannin, polyphenol pada variabel *pre-treatment***

Variabel	% Degradasi		
	Kafein	Tanin	Poliphenol
1 : 1 : 1	95.34	98.96	97.99
1 : 1 : 2	97.67	99.17	99.14
1 : 2 : 2	99.42	99.79	99.68
1 : 2 : 1	99.88	99.79	99.43
2 : 1 : 1	98.84	99.58	98.56
2 : 2 : 1	93.02	98.34	97.13
2 : 1 : 2	90.69	98.54	97.70

**3. Hasil pengamatan MLSS untuk tiap-tiap variabel**

Contoh perhitungan MLSS dengan variabel KS : R = 1 : 1 pada hari ke 0

$$\text{MLSS} \left( \frac{\text{g}}{\text{L}} \right) = \frac{(B_2 - B_1) \times 1000}{\text{Vol. Sample}}$$

Volume sample = 100 mL

$$\text{MLSS} \left( \frac{\text{g}}{\text{L}} \right) = \frac{(60.62 - 60.27) \times 1000}{100}$$

$$\text{MLSS (g/L)} = 3.59 \text{ g/L}$$

Dimana ,  $B_1$  = Berat cawan + kertas saring

$B_2$  = Berat cawan + sampel yang disaring + abu setelah dioven

**Tabel A-3 Hasil pengamatan MLSS untuk tiap-tiap variabel**

Variabel	Hari	MLSS		
		$B_1$ (gr)	$B_2$ (gr)	MLSS (g/L)
KS	0	74.22	74.59	3.77
	4	74.35	74.59	2.37
	8	74.05	74.26	2.17
	12	74.39	74.62	2.31
	16	74.18	74.51	3.30
R	0	50.17	50.53	3.65

	4	51.51	51.76	2.43
	8	52.87	53.09	2.20
	12	51.56	51.79	2.32
	16	52.13	52.47	3.42
KS + R (1 : 1)	0	60.27	60.62	3.59
	4	61.54	61.83	2.89
	8	64.98	65.22	2.41
	12	62.09	62.35	2.59
	16	63.06	63.42	3.57
KS + R (1 : 2)	0	59.89	60.29	3.97
	4	57.34	57.60	2.60
	8	58.45	58.67	2.19
	12	60.58	60.81	2.31
	16	59.23	59.63	3.95
KS + R (2 : 1)	0	48.86	49.25	3.89
	4	47.72	47.99	2.69
	8	49.68	49.91	2.27
	12	47.34	47.58	2.35
	16	48.20	48.56	3.57

Contoh perhitungan % Penurunan MLSS variabel KS

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penurunan MLSS} &= (\text{MLSS Hari ke 0} - \text{MLSS Hari ke } \\
 &\quad 12) / \text{MLSS Hari ke 0} \\
 &= (3.77 - 3.30) / 3.88 \times 100 \% \\
 &= 12.536 \%
 \end{aligned}$$

**Tabel A-4 Presentase Penurunan MLSS pada tiap-tiap variabel**

% Penurunan MLSS				
KS	R	KS + R (1:1)	KS + R (1:2)	KS + R (2:1)
12.536	6.3014	0.5017	0.6039	8.2262

**4. Hasil pengamatan MLVSS untuk tiap-tiap variabel**

Contoh perhitungan MLVSS dengan variabel KS : R = 1 : 1 pada hari ke 0

$$MLVSS \left( \frac{g}{L} \right) = \frac{(B_2 - B_3) \times 1000}{Vol. Sample}$$

Volume sample = 100 mL

$$MLVSS \left( \frac{g}{L} \right) = \frac{(60.27 - 59.89) \times 1000}{100}$$

$$MLVSS (g/L) = 3.75 g/L$$

Dimana , B<sub>2</sub> = Berat cawan + sampel + abu setelah dioven

B<sub>3</sub> = Berat cawan + sampel + abu setelah difurnace

**Tabel A-5 Hasil pengamatan MLVSS untuk tiap-tiap variabel**

Variabel	Hari	MLVSS		
		B <sub>2</sub> (gr)	B <sub>3</sub> (gr)	MLVSS (g/L)
KS	0	74.59	74.21	3.86
	4	74.59	74.36	2.35
	8	74.26	74.06	2.07
	12	74.62	74.36	2.60
	16	74.51	74.13	3.85
R	0	50.53	50.17	3.62
	4	51.76	51.55	2.09
	8	53.09	52.87	2.19
	12	51.79	51.53	2.65
	16	52.47	52.11	3.58

KS + R (1 : 1)	0	60.62	60.22	4.09
	4	61.83	61.61	2.15
	8	65.22	65.01	2.11
	12	62.35	62.04	3.11
	16	63.42	63.03	3.84
KS + R (1 : 2)	0	60.29	59.87	4.20
	4	57.60	57.36	2.41
	8	58.67	58.45	2.21
	12	60.81	60.51	2.97
	16	59.63	59.24	3.85
KS + R (2 : 1)	0	49.25	48.84	4.12
	4	47.99	47.71	2.78
	8	49.91	49.65	2.59
	12	47.58	47.24	3.36
	16	48.56	48.20	3.63

Contoh perhitungan % Penurunan MLVSS variabel KS

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Penurunan MLVSS} &= (\text{MLVSS Hari ke 0} - \text{MLVSS Hari ke 12}) / \text{MLVSS Hari ke 0} \\
 &= (4.09 - 3.84) / 4.09 \times 100 \% \\
 &= 6.11 \%
 \end{aligned}$$

**Tabel A-6 Presentase Penurunan MLVSS pada tiap-tiap variabel**

% Penurunan MLVSS				
KS	R	KS + R (1:1)	KS + R (1:2)	KS + R (2:1)
0.26	1.10	6.11	8.33	11.89

## 5. Hasil Pengamatan COD untuk tiap-tiap variabel

**Tabel A-7 Hasil analisa Chemical Oxygen Demand (COD)**

Waktu (Hari)	COD				
	KS	R	KS+R (1:1)	KS+R (1:2)	KS+R (2:1)
0	8927.35	8012.52	10477.18	7654.04	11273.63
4	7183.04	7915.07	9823.44	6925.32	10372.32
8	7013.17	7389.39	8713.12	6316.11	8926.14
12	7001.32	7031.79	8413.37	5421.37	8631.39
16	6872.01	7011.22	7925.26	5221.27	8521.63

**6. Hasil pengamatan  $\Delta h$  (kenaikan tinggi) dan volume biogas dalam gas holder**

Contoh perhitungan volume biogas pada variabel KS pada hari ke-5

$$\text{Diameter gas holder} = 6 \text{ inch} = 15.24 \text{ cm}$$

$$\text{Jari-jari gas holder (r)} = 3 \text{ inch} = 7.62 \text{ cm}$$

$$\text{Ketinggian pada gas holder } (\Delta h) = 0.1 \text{ cm}$$

$$\text{Volume yang terbentuk } (\Delta V) = \pi \times r^2 \times \Delta h = 3.14 \times (7.62)^2$$

$$\times 1.2$$

$$= 218.786 \text{ cm}^3$$

$$= 0.22 \text{ L}$$

**Tabel A-8 Hasil pengamatan  $\Delta h$  (kenaikan tinggi) dan volume biogas dalam reaktor**

Waktu (hari)	KS			R		
	$\Delta h$ (cm)	$\Delta V$ (Liter)	V acc (Liter)	$\Delta h$ (cm)	$\Delta V$ (Liter)	V acc (Liter)
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4	0.00	0.00	0.00	0.30	0.05	0.05
5	0.10	0.02	0.02	3.30	0.60	0.66
6	1.10	0.20	0.22	4.80	0.88	1.53
7	0.00	0.00	0.22	5.20	0.95	2.48
8	2.10	0.38	0.60	4.30	0.78	3.26
9	0.50	0.09	0.69	0.10	0.02	3.28
10	2.30	0.42	1.11	1.20	0.22	3.50
11	3.20	0.58	1.70	1.40	0.26	3.76
12	4.10	0.75	2.44	3.05	0.56	4.31
13	0.28	0.05	2.49	1.30	0.24	4.55
14	3.70	0.67	3.17	1.80	0.33	4.88
15	4.10	0.75	3.92	2.30	0.42	5.30
16	3.80	0.69	4.61	2.10	0.38	5.68

Waktu (hari)	KS : R (1:1)			KS : R (1:2)			KS : R (2:1)		
	$\Delta h$ (cm)	$\Delta V$ (Liter)	V acc (Liter)	$\Delta h$ (cm)	$\Delta V$ (Liter)	V acc (Liter)	$\Delta h$ (cm)	$\Delta V$ (Liter)	V acc (Liter)
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3	0.10	0.02	0.02	0.30	0.05	0.05	0.00	0.00	0.00
4	0.80	0.15	0.16	1.10	0.20	0.26	0.40	0.07	0.07
5	0.10	0.02	0.18	0.20	0.04	0.29	0.60	0.11	0.18

**7. Hasil pengamatan  $\Delta h$  (kenaikan tinggi) dan volume biogas standart dalam gas holder**

Contoh perhitungan :

$$\text{Massa tutup gas holder (bagian floating )} = 2.5 \text{ kg}$$

$$\text{Gravitasi} = 9.8$$

$$\text{m/s}^2$$

$$\text{Berat Tutup} = \text{Massa}$$

$$\text{tutup x gravitasi}$$

$$= 2.5$$

$$\text{kg x } 9.8 \text{ m/s}^2$$

$$= 24.5$$

$$\text{kgm/s}^2$$

$$\text{Luas Penampang} = \pi \times r$$

$$\text{x r}$$

$$= 3.14$$

$$\text{x } 7.62 \text{ cm x } 7.62 \text{ cm}$$

$$182.32 \text{ cm}^2 =$$

$$\text{Tekanan (P) Tutup} = F / A = 24.5$$

$$\text{kgm/s}^2 / 0.0182 \text{ m}^2 =$$

$$1343.7748 \text{ N/m}^2 =$$

$$P_1 = P$$

$$\text{tutup} + P \text{ atmosferik} =$$

$$1343.7748 + 101325 =$$

$$102668.80 \text{ N/m}^2 = 1.013 \text{ atm} =$$

$$P \text{ standart} = 1 \text{ atm}$$

$$T \text{ standart} =$$

$$273.15 \text{ K}$$

Asumsi menggunakan hokum gas ideal, maka :

$$\frac{P_1 V_1}{T_1} = \frac{P_{std} V_{std}}{T_{std}}$$

Contoh perhitungan pada variabel KS pada hari ke 5

$$\frac{1.013 \times 0.22}{303} = \frac{1 \times V_{std}}{273.15}$$

$$V_{std} = 0.2 \text{ L}$$

**Tabel A-9 Hasil pengamatan Δh (kenaikan tinggi) dan volume biogas standart dalam reactor**

Waktu (hari)	KS			R			KS : R (1:1)		
	ΔV (Liter)	Vstd (Liter)	V acc (Liter)	ΔV (Liter)	Vstd (Liter)	V acc (Liter)	ΔV (Liter)	Vstd (Liter)	V acc (Liter)
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.02	0.02
4	0.00	0.00	0.00	0.05	0.05	0.05	0.15	0.13	0.15



Waktu (hari)	KS : R (1:2)			KS : R (2:1)		
	$\Delta V$ (Liter)	Vstd (Liter)	V acc (Liter)	$\Delta V$ (Liter)	Vstd (Liter)	V acc (Liter)
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3	0.05	0.05	0.05	0.00	0.00	0.00
4	0.20	0.18	0.23	0.07	0.07	0.07
5	0.04	0.03	0.27	0.11	0.10	0.17
6	0.05	0.05	0.32	0.20	0.18	0.35
7	0.27	0.25	0.57	0.30	0.27	0.62
8	0.42	0.38	0.95	0.42	0.38	1.00
9	0.22	0.20	1.15	0.23	0.21	1.21
10	0.44	0.40	1.55	0.29	0.27	1.48
11	0.78	0.72	2.26	0.44	0.40	1.88
12	0.95	0.87	3.13	0.59	0.54	2.42
13	0.34	0.31	3.44	0.30	0.27	2.69
14	0.45	0.41	3.85	0.48	0.44	3.13
15	0.67	0.62	4.46	0.63	0.57	3.70
16	0.82	0.75	5.21	0.81	0.74	4.44

### 8. Hasil Pengamatan Tekanan Pada Reaktor Biogas

Contoh perhitungan :

$$\text{Tekanan reactor} = P \text{ udara luar (atmosferik)} + (\Delta h \times \rho \text{ air} \times g)$$

Dimana ,

$$\rho \text{ air} = 1000 \text{ kg/m}^3$$

$$\text{Gravitasi} = 9.8 \text{ m/s}^2$$

$$P \text{ udara luar} = 101325 \text{ N/m}^2$$

Contoh perhitungan pada variabel KS pada hari ke-5

$$P \text{ reactor} = P \text{ udara luar (atmosferik)} + (\Delta h \times \rho \text{ air} \times g)$$

$$= 101325 \text{ N/m}^2 + (0.1 \times 1000 \times 9.8)$$

$$= 101334.827 \text{ N/m}^2 = 1 \text{ atm}$$

**Tabel A-10 Hasil pengamatan tekanan dalam reaktor biogas**

Waktu (hari)	KS		R		KS : R (1:1)	
	$\Delta h$ (cm)	P reaktor (atm)	$\Delta h$ (cm)	P reaktor (atm)	$\Delta h$ (cm)	P reaktor (atm)
0	0.00	1.000	0.00	1.000	0.00	1.000
1	0.00	1.000	0.00	1.000	0.00	1.000
2	0.00	1.000	0.00	1.000	0.00	1.000
3	0.00	1.000	0.00	1.000	0.10	1.000
4	0.00	1.000	0.30	1.000	0.80	1.001
5	0.10	1.000	3.30	1.003	0.10	1.000
6	1.10	1.001	4.80	1.005	1.50	1.001
7	0.00	1.000	5.20	1.005	1.80	1.002
8	2.10	1.002	4.30	1.004	2.00	1.002
9	0.50	1.000	0.10	1.000	0.20	1.000
10	2.30	1.002	1.20	1.001	1.70	1.002
11	3.20	1.003	1.40	1.001	2.80	1.003
12	4.10	1.004	3.05	1.003	3.10	1.003
13	0.28	1.000	1.30	1.001	1.30	1.001
14	3.70	1.004	1.80	1.002	5.20	1.005
15	4.10	1.004	2.30	1.002	4.40	1.004
16	3.80	1.004	2.10	1.002	3.10	1.003

Waktu (hari)	KS : R (1:2)		KS : R (2:1)	
	$\Delta h$ (cm)	P reaktor (atm)	$\Delta h$ (cm)	P reaktor (atm)
0	0.00	1.000	0.00	1.000
1	0.00	1.000	0.00	1.000
2	0.00	1.000	0.00	1.000
3	0.30	1.000	0.00	1.000
4	1.10	1.001	0.40	1.000
5	0.20	1.000	0.60	1.001
6	0.30	1.000	1.11	1.001
7	1.50	1.001	1.62	1.002
8	2.30	1.002	2.30	1.002
9	1.20	1.001	1.24	1.001
10	2.40	1.002	1.60	1.002
11	4.30	1.004	2.41	1.002
12	5.20	1.005	3.25	1.003
13	1.85	1.002	1.62	1.002
14	2.46	1.002	2.62	1.003
15	3.70	1.004	3.45	1.003
16	4.50	1.004	4.42	1.004

## 9. Hasil analisa komposisi biogas menggunakan Gas Chromatography

Tabel A-11 Hasil analisa komposisi biogas menggunakan Gas Chromatography

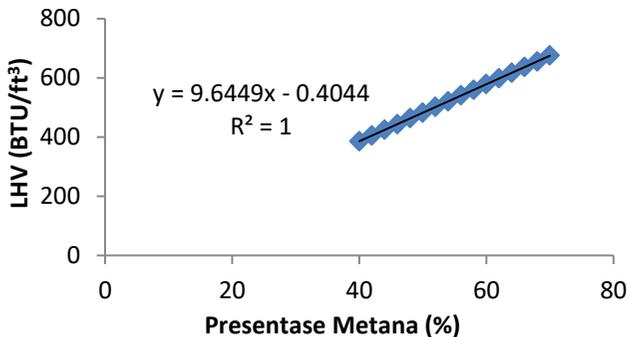
Waktu (Hari)	CO <sub>2</sub>					CH <sub>4</sub>				
	KS	R	KS : R (1:1)	KS : R (1:2)	KS : R (2:1)	KS	R	KS : R (1:1)	KS : R (1:2)	KS : R (2:1)
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0.536	2.013	0.954	2.698	1.752	0	0	0	0	0
8	0.574	2.064	1.437	3.077	2.618	0	0	0	0	0
12	0.992	2.335	2.27	3.211	2.968	0.282	0.58	0.33	0.926	0.748
16	1.481	2.632	2.572	3.501	3.347	1.178	1.346	0.712	1.825	1.366

## 10. Hasil perhitungan Heating Value pada Biogas

Berdasarkan Measurement And Verification (M&V) Plan For Lamb Farm's (New York State Energy Research and Development Authority, 2009), perhitungan Heating Value dapat dihitung berdasarkan fraksi atau komposisi dari gas metana yang terkandung dalam biogas.

Contoh perhitungan untuk Heating Value pada variabel biogas variabel KS :

LHV Biogas dapat ditentukan melalui grafik hubungan antara presentase metana dalam biogas dengan LHV.



Gambar A-1 Grafik Hubungan Presentase Metana (%) dengan LHV Biogas (BTU/ft<sup>3</sup>)

Dari grafik diatas diperoleh persamaan garis yaitu :

$$y = 9.6449 x - 0.4044$$

Untuk konsentrasi  $\text{CH}_4$  variabel KS hari ke 12 adalah 0.282 %

$$y = (9.6449 \times 0.282) - 0.4044$$

$$y = 2.3155 \text{ BTU/ft}^3$$

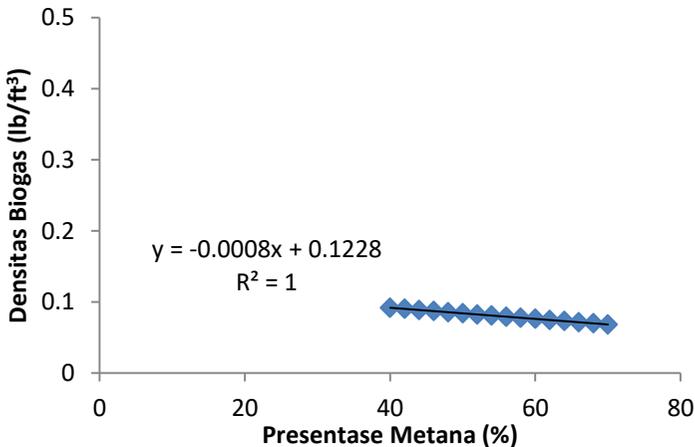
$$\text{LHV Biogas} = \text{LHV Metana} \times (1 - F_{\text{CO}_2})$$

$$\begin{aligned} \text{LHV Biogas} &= 2.3155 \text{ BTU/ft}^3 \times (1 - 0.00992) \\ &= 2.2925 \text{ BTU/ft}^3 \end{aligned}$$

Dimana , LHV = Low Heating Value ( $\text{BTU/ft}^3$ )

F = Fraksi komponen dalam biogas

Untuk merubah satuan LHV menjadi kcal/kg diperlukan nilai densitas biogas. Nilai densitas tersebut diperoleh dari grafik hubungan antara persen metana dalam biogas dengan densitas biogas (David Ludington, 2008).



**Grafik A-2 Grafik hubungan densitas dengan % metana dengan densitas biogas**

Dari grafik diatas diperoleh persamaan garis yaitu :

$$y = - 0.0008 x + 0.1228$$

Untuk konsentrasi CH<sub>4</sub> variabel KS hari ke 12 adalah 0.282 %

$$y = - (0.0008 \times 0.282) - 0.4044$$

$$y = 0.1226 \text{ lb/ft}^3$$

Densitas biogas variabel KS pada hari ke 12 = 0.1226 lb/ft<sup>3</sup>

$$\text{LHV} = 2.2925 \text{ BTU/ft}^3 / 0.1226 \text{ lb/ft}^3$$

$$= 18.699 \text{ BTU/lb}$$

$$= 10.378 \text{ kcal/kg}$$

**Tabel A-12 Hasil perhitungan Heating Value Biogas**

Waktu (Hari)	KS			R			KS : R (1:1)		
	LHV (BTU/ft <sup>3</sup> )	Densitas (lb/ft <sup>3</sup> )	LHV (kcal/kg)	LHV (BTU/ft <sup>3</sup> )	Densitas (lb/ft <sup>3</sup> )	LHV (kcal/kg)	LHV (BTU/ft <sup>3</sup> )	Densitas (lb/ft <sup>3</sup> )	LHV (kcal/kg)
4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
12	2.293	0.123	10.378	5.069	0.122	23.032	2.715	0.123	12.319
16	10.795	0.122	49.247	12.247	0.122	55.933	6.297	0.122	28.633

Waktu (Hari)	KS : R (1:2)			KS : R (2:1)		
	LHV (BTU/ft <sup>3</sup> )	Densitas (lb/ft <sup>3</sup> )	LHV (kcal/kg)	LHV (BTU/ft <sup>3</sup> )	Densitas (lb/ft <sup>3</sup> )	LHV (kcal/kg)
4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
12	8.253	0.122	37.588	6.608	0.122	30.061
16	16.595	0.121	76.032	8.496	0.122	38.808

## RIWAYAT HIDUP PENULIS



**Vivi Alvionita Sari.** Dilahirkan di kota Malang pada tanggal 2 September 1993. Anak pertama dari dua bersaudara ini, mengawali pendidikan dasarnya di SDN Ngaglik 1 Kota Batu. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan di SMP Negeri 1 Kota Batu. Selanjutnya penulis melanjutkan pendidikan di SMA Negeri 1 Batu. Pada tahun 2011, penulis memutuskan untuk memilih Jurusan

Teknik Kimia di Politeknik Negeri Malang sebagai pendidikan lanjutnya. Selanjutnya penulis melanjutkan pendidikan di Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya melakukan penelitian di Laboratorium Pengolahan Limbah Industri dengan judul **“Peranan Mikroorganisme Pada *Pretreatment* Kulit Kopi Sebagai Bahan Baku Pembuatan Biogas”**

No. HP : +6282 233 446 482

Email : vivi\_alvio02@yahoo.com



**Desy Arista.** Dilahirkan di kota Bangil pada tanggal 12 Desember 1993. Anak kedua dari dua bersaudara ini, mengawali pendidikan dasarnya di SDN Kiduldalem 1 Bangil. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan di SMP Negeri 1 Bangil. Selanjutnya penulis melanjutkan pendidikan di SMA Negeri 1 Bangil. Pada tahun 2011, penulis memutuskan untuk memilih Jurusan Teknik Kimia di Politeknik Negeri Malang sebagai pendidikan lanjutnya. Selanjutnya penulis melanjutkan pendidikan di Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya melakukan penelitian di Laboratorium Pengolahan Limbah Industri dengan judul **“Peranan Mikroorganisme Pada *Pretreatment* Kulit Kopi Sebagai Bahan Baku Pembuatan Biogas”**

No. HP : +62857 3221 6947

Email : ariesta.desy93@gmail.com