

**PEMANFAATAN LIMBAH RUMAH POTONG HEWAN (RPH) SEBAGAI
MEDIA KULTUR MIKROBA PENGHASIL LISTRIK MELALUI *MICROBIAL*
FUEL CELL (MFC)**

CHRISTINA NATALIA WIJAYA

030403012X



**UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
DEPARTEMEN KIMIA
DEPOK
2008**

**PEMANFAATAN LIMBAH RUMAH POTONG HEWAN (RPH) SEBAGAI
MEDIA KULTUR MIKROBA PENGHASIL LISTRIK MELALUI *MICROBIAL
FUEL CELL* (MFC)**

**Skripsi diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains**

Oleh:

CHRISTINA NATALIA WIJAYA

030403012X



DEPOK

2008

SKRIPSI : PEMANFAATAN LIMBAH RUMAH POTONG HEWAN (RPH)
SEBAGAI MEDIA KULTUR MIKROBA PENGHASIL LISTRIK
MELALUI *MICROBIAL FUEL CELL* (MFC)

NAMA : CHRISTINA NATALIA WIJAYA

NPM : 030403012X

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, JULI 2008

Dra.SISWATI SETIASIH, Apt. M.Si

RAHMAT WIBOWO, M.Sc

PEMBIMBING I

PEMBIMBING II

Tanggal lulus Ujian Sidang Sarjana :

Penguji I :

Penguji II :

Penguji III :

You cannot predict life, anything can happen anytime...anywhere..

So all you can do is just **do the best you can do** in everything you do in life
and leave the rest to God

You have to accept everything with **thankful feeling** and you'll be happy

You can't change a person but you can **change your attitude** to suit with everyone

Don't hurt anyone's heart 'cause it only gives bad feelings to our heart

Always **think positive**, treat people like what you want to be treated

Be **brave** to take a chance, you'll never know what will happen

It's worth it to take a risk because **life is so short**

Time always passes by without us noticing

Many things have happened when you realized that

But **don't ever have a regret**

leave the past, live for today, look forward to the future... and you will move on

There will always be spectacles in your way but **never give up**, give it a try and
where there is a will there will always be a way

God, family and friends are important, never neglect them

Love them for what they are and they will love you for who you are

Love yourself, learn to know yourself, be happy for everything in you and that is you..

Love the nature

Believe in God, trust Him, be **His hands** on earth that will spread goodness, love and
happiness

Special thanks to : Matinğu, Alex, Kur, Cing, Cim, Wur, Cung, Njus, Min, Gil, BC

This is for you and Mami Papi tercinta ...

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah Bapa karena atas berkat, penyertaan, kasih dan bimbingan-Nya, skripsi berjudul " Pemanfaatan Limbah Rumah Potong Hewan (RPH) sebagai Media Kultur Mikroba Penghasil Listrik melalui *Microbial Fuel Cell* (MFC)" dapat selesai tepat pada waktunya.

Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada Dra. Siswati Setiasih, Apt. M.Si dan Rahmat Wibowo, M.Sc selaku Pembimbing I dan II atas perhatian dan bimbingannya selama enam bulan ini. Rasa penghargaan dan terima kasih juga ingin disampaikan penulis kepada Dr. rer.nat Widayanti Wibowo selaku Pembimbing Akademis, Dr. Endang Asijati, Dr. Emil Budianto, Dr. Budiawan, Dr. Yoki Yulizar, Drs. Tresye Utari, Drs. Widyastuti, dan seluruh staf pengajar Departemen Kimia FMIPA UI yang telah menuntun dan memberi wawasan yang sangat berguna bagi perkembangan akademis dan non akademis penulis. Tak lupa rasa terima kasih ingin penulis sampaikan kepada Mbak Tri, Mbak Ema, Teh Ina, Teh Cucu, Pak Amin, Babe, Pak Kiri, Pak Wito, Tim Afiliasi, dan lain-lain atas bantuan, pengertian, serta kerja samanya selama penulis mengerjakan penelitian.

Dukungan moral yang sangat dibutuhkan juga penulis dapatkan dari teman-teman angkatan 2004 (Niezha, Isal, Wakhid, Danar, Lindi, Imah, Tya, Alex, Cing-Cing, Kurnia, Wuri, Vero, Nur, Opik, Ratna, Atul, Eka, Ruth, Caca, Riska, dan lain-lain), angkatan atas (Novena, Santi, Vera, Dewi, Riki, Farid,

dan Fitra), angkatan bawah (Adi, Tere, Cicil, Irwan, Hani, Gaya, Nuhi, Rillian, Kris, Nando, Domu, Santi, Sarah, Alex L, dan lain-lain), teman-teman Liga Tari Krida Budaya yang di tengah kesibukannya menari tetap menyemangati agar lulus tepat empat tahun, teman-teman KMK FMIPA UI yang selalu ada di saat membutuhkan (Irwanto, Eci, Luci, Oliph, Wely, Visto, dan lain-lain) , teman-teman Dancesport UI yang selalu membuat gembira (Riri, Gilang, Ramot, Abi, Ratih, Ochie, Uky, Gilbert), teman-teman Antiokhia MKK yang walaupun saling berjauhan secara fisik namun hati kita selalu bersatu (Njus, Mimin, Adit, ABC, Melz, Yana, Yani, Nika, Teza, Mei, Kosim, Oscar, Welly, Patty, Andy, Kodie, Chelle, dan lain-lain), dan teman-temanku yang lain di benua manapun kau berada yang namanya tak cukup kutuliskan semua namun tetap mendoakan. Skripsi ini dipersembahkan penulis untuk ayah, ibu, kakak, dan adik yang telah memberi kepercayaan dan rasa kasih sayang yang tak terhingga.

Penulis memohon maaf bila ada salah kata dalam penulisan dan berharap agar skripsi ini akan berguna kelak bagi siapapun yang membacanya. Semoga skripsi ini tidak hanya akan menjadi tambahan satu buku pajangan di perpustakaan departemen namun dapat menjadi buku yang memberikan inspirasi dan semangat.

Penulis

2008

ABSTRAK

Microbial Fuel Cell (MFC) merupakan seperangkat alat yang menggunakan mikroorganisme sebagai biokatalis untuk mengoksidasi senyawa organik dalam metabolisemenya. Metabolisme sel mikroorganisme melibatkan proses transfer elektron yang dapat digunakan untuk memproduksi tegangan dan arus listrik. Arus listrik dapat dihasilkan bila terdapat senyawa mediator dalam kompartemen anoda yang akan melakukan penetrasi ke dalam membran plasma sel, kemudian mengambil elektron dari rantai transfer elektron mikroorganisme tersebut serta membawanya menuju ke permukaan elektroda. Pada penelitian ini digunakan kultur mikroorganisme campuran dari air limbah rumah potong hewan (RPH) Rangkapan Jaya Depok dengan substrat senyawa organik dalam air limbah RPH tersebut. Dilakukan pengukuran arus dan tegangan yang dihasilkan dalam sistem MFC dua kompartemen tanpa dan dengan penambahan mediator dari luar yang dipisahkan oleh suatu *Proton Exchange Membrane* (PEM) Nafion menggunakan elektroda arang kayu besi. Tanpa penambahan mediator didapat densitas arus listrik maksimum $0,262 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ dan densitas tegangan maksimum $16,303 \text{ mV}\cdot\text{cm}^{-2}$. Penggunaan mediator *methylene blue* (MB) yang diimobilisasi pada elektroda menghasilkan densitas arus listrik maksimum $0,329 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ dan densitas tegangan maksimum $33,526 \text{ mV}\cdot\text{cm}^{-2}$. Penggunaan mediator *ferrocene dicarboxylic acid* (FcDA) dalam bentuk

larutan menghasilkan densitas arus maksimum $2,211 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ dan densitas tegangan maksimum $33,75 \text{ mV}\cdot\text{cm}^{-2}$. *Feeding* glukosa pada menit ke-15 dan 45, tidak meningkatkan tegangan dan arus listrik yang dihasilkan.

Kata kunci : air limbah rumah potong hewan (RPH); *cyclic voltametry*; dua kompartemen; elektroda arang kayu besi; kultur campuran; mediator; *methylene blue*; *Microbial Fuel Cell (MFC)*; *Proton Exchange Membrane (PEM)*

xi+68 hlm.; gbr.; tab.; lamp.

Bibliografi : 27 (1987-2008)



DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	i
ABSTRAK.....	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1. 1 Latar Belakang.....	1
1. 2 Tujuan Penelitian.....	3
1. 3 Hipotesis.....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2. 1 <i>Fuel Cell (FC)</i>	5
2. 2 <i>Polymer Electrolyte Membrane Fuel Cell</i> <i>(PEMFC)</i>	7
2. 3 <i>Polymer Electrolyte Membrane Biological Fuel</i> <i>Cell (PEMBFC)</i>	7
2. 4 <i>Microbial Fuel Cell (MFC)</i>	8
2. 4. 1 Desain MFC.....	13
2. 4. 2 Elektroda.....	14
2. 4. 3 Elektrolit.....	15
2. 4. 4 Reaksi pada Kompartemen Anoda dan Katoda....	16
2. 4. 5 Mediator Transfer Elektron.....	18
2. 4. 5. 1 Uji Aktivitas Antimikroba Mediator.....	22
2. 5 <i>Voltametri Siklik (Cyclic Voltametry)</i>	22

2. 6	Air Limbah RPH.....	24
2. 6. 1	Penghitungan Jumlah Sel.....	25
2. 7	Teknik Pengambilan Sampel.....	26
2. 7. 1	Pengambilan Sampel.....	26
2. 7. 2	Transportasi serta Pengawetan Sampel.....	27
2. 7. 3	Analisis Kimia Sampel.....	28
BAB III.	BAHAN DAN CARA KERJA.....	31
3. 1	Peralatan dan Bahan.....	31
3. 1. 1	Peralatan.....	31
3. 1. 2	Instrumen.....	31
3. 1. 3	Bahan-bahan.....	32
3. 2	Cara Kerja.....	32
3. 2. 1	Pembuatan Elektroda.....	32
3. 2. 2	Pengambilan Sampel Air Limbah RPH.....	33
3. 2. 3	Sifat Elektroaktif Mediator.....	33
3. 2. 4	Immobilisasi Mediator pada Elektroda.....	34
3. 2. 5	Pembuatan Media <i>Nutrient Agar</i> (NA).....	35
3. 2. 6	Penghitungan Jumlah Sel (TPC).....	35
3. 2. 7	Uji Aktivitas Antimikroba Mediator.....	36
3. 2. 8	Penyiapan MFC dan Pengukuran Listrik.....	36
3. 2. 9	Analisis Kimia Sampel.....	38
3. 3	Diagram Metodologi Penelitian (terlampir).....	39
BAB IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	41
4.1	Penghitungan Jumlah Sel (TPC).....	41
4.2	Elektrokimia Mediator.....	43
4.3	Elektrokimia Elektroda Arang.....	45
4.4	Uji Aktivitas Antimikroba.....	46

4.5	Desain MFC.....	47
4.6	Pengukuran MFC tanpa Penambahan Mediator.....	50
4.7	Pengukuran MFC dengan Mediator MB.....	52
4.8	Pengukuran MFC dengan Mediator MB dan <i>Feeding</i> Glukosa.....	54
4.9	Pengukuran MFC dengan Mediator FcDA.....	56
4.10	Pengukuran Kadar Protein.....	57
4.11	Pengukuran Kadar Glukosa.....	58
4.12	Efisiensi Sistem MFC.....	59
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....		63
5.1	Kesimpulan.....	63
5.2	Saran.....	63
DAFTAR PUSTAKA.....		65
LAMPIRAN.....		69

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2. 1 Skema <i>Hydrogen/Oxygen Fuel Cell</i>	6
2. 2 MFC dengan bioreaktor terpisah dari <i>fuel cell</i>	9
2. 3 MFC dengan bakteri ditempelkan pada anoda.....	11
2. 4 MFC dengan kompartemen anoda sebagai bioreaktor.....	12
2. 5 MFC tanpa menggunakan mediator transfer elektron.....	13
2. 6 Siklus Krebs.....	17
2. 7 Tiga macam cara kerja mediator dalam MFC.....	20
2. 8 Struktur MB.....	21
2. 9 Struktur FcDA.....	21
2. 10 Voltamogram reversibel.....	23
4. 1 Hasil TPC pengenceran 10^{-4} (duplo).....	43
4. 2 Voltamogram CV FcDA variasi <i>scan rate</i>	44
4. 3 Voltamogram CV MB variasi <i>scan rate</i>	44
4. 4 Voltamogram CV air limbah variasi <i>scan rate</i>	45
4. 5 Voltamogram MB pada elektroda arang.....	46
4. 5 Hasil uji aktivitas antimikroba.....	47
4. 6 Desain MFC yang digunakan.....	49
4. 7 Elektroda arang kayu besi.....	49
4. 8 Pengukuran densitas tegangan tanpa penambahan mediator.....	51
4. 9 Pengukuran densitas arus tanpa penambahan mediator.....	52
4. 10 Pengukuran densitas tegangan dengan mediator MB.....	53
4. 11 Pengukuran densitas arus dengan mediator MB.....	54
4. 12 Pengukuran densitas tegangan dengan mediator MB dan	

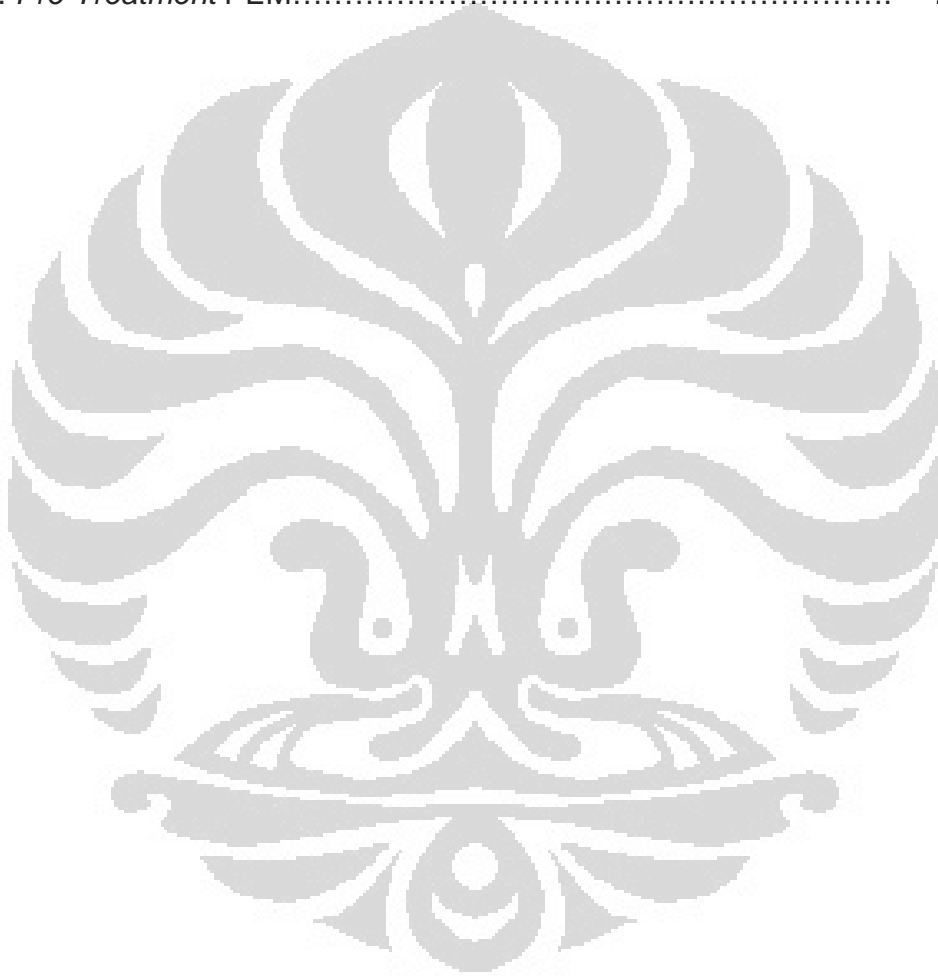
<i>feeding</i> glukosa.....	55
4. 13 Pengukuran densitas arus dengan mediator MB dan <i>feeding</i> glukosa.....	56
4. 14 Pengukuran densitas tegangan dengan mediator FcDA.....	57
4. 15 Pengukuran densitas arus dengan mediator FcDA.....	57
4. 16 Perbandingan <i>spike</i> glukosa 20, 50, dan 200 μ L.....	59
L 3. Struktur PTFE PEM.....	71
L 4. A. MFC sederhana dengan jembatan garam, B. MFC empat kompartemen yang dipisahkan oleh membran, C. sama seperti B namun sistem berkelanjutan, D. MFC tipe fotoheterotropik, E. MFC satu kompartemen dengan katoda bentuk tabung, F. Sistem tipe H dua kompartemen ¹⁴	72
L 5. (a) MFC satu kompartemen, (b) <i>Packed-bed</i> MFC, (c) <i>Upflow packed-bed</i> MFC ²⁷	72
L 6. Berbagai jenis MFC yang digunakan untuk sistem berkelanjutan ¹⁴	73
L 7. MFC tipe H dengan dua kompartemen ²⁷	73
L 8. Deret standar dan sampel metode Lowry.....	74
L 9. Lokasi pengambilan sampel.....	74
L 10. (a) Hubungan antara seri pengenceran dan absorbansi.....	75
(b) Hubungan antara absorbansi dan jumlah sel per mL.....	76
L 11. Kurva deret standar BSA.....	77
L12. Kurva <i>spike</i> glukosa dan luas area.....	78
L 18. <i>Effective Microorganism</i> 4.....	85

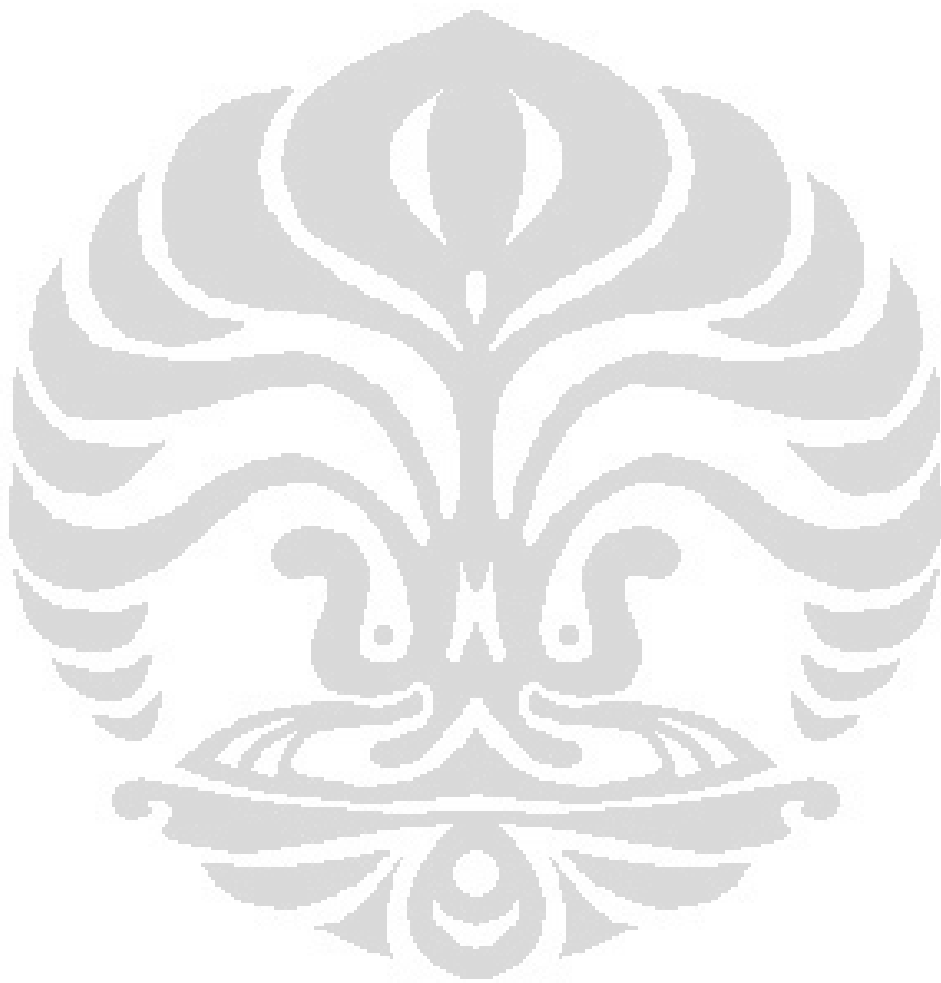
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Data hasil TPC.....	42
L 10. (a)Data hasil OD.....	76
(b)Data Hubungan Pengenceran, Absorbansi, dan TPC....	76
L 11. Data absorbansi metode Lowry	76
L 12. Data kuantitatif HPLC	77
L.13. Hasil pengukuran tegangan dan arus kontrol.....	78
L 14. Hasil pengukuran tegangan dan arus tanpa penambahan mediator.....	79
L 15. Hasil pengukuran tegangan dan arus dengan mediator MB.....	81
L 16. Hasil pengukuran tegangan dan arus dengan mediator MB feeding glukosa pada menit ke-15 dan 45.....	83
L 17. Hasil pengukuran tegangan dan arus dengan mediator FcDA.....	85

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Metode Penelitian.....	70
2. <i>Pre-Treatment</i> PEM.....	71





BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pemakaian energi tidak pernah lepas dari kehidupan manusia setiap harinya. Kita menggunakan energi dalam berbagai bentuk seperti energi dari bahan bakar cair untuk kendaraan bermotor, gas untuk memasak di dapur, dan yang terutama energi listrik untuk menjalankan hampir semua peralatan elektronik. Tanpa energi listrik manusia dapat dikatakan "lumpuh", karena kita tidak dapat menggunakan peralatan komunikasi, perangkat komputer, penerangan, dan lainnya dalam waktu yang lama. Semua hasil perkembangan teknologi membutuhkan energi. Namun ironisnya, energi listrik yang selama ini kita peroleh berasal dari hasil pembakaran bahan bakar fosil.

Bahan bakar fosil merupakan sumber bahan bakar yang tak terbarukan dan pemakaiannya memberi kontribusi yang besar terhadap polusi di lingkungan. Oleh karena itu banyak peneliti telah mencari sumber energi alternatif yang terbarukan dan tidak merusak lingkungan. Salah satu solusi yang menjanjikan ialah penggunaan *fuel cell*.

Fuel cell merupakan suatu sel elektrokimia yang mengubah energi bebas dari suatu reaksi kimia untuk menghasilkan energi listrik¹. *Fuel cell*

yang menggunakan komponen biologis seperti organisme disebut *biological fuel cell*. *Biological fuel cell* (BFC) ini terbagi dua menjadi *enzymatic fuel cell* dan *microbial fuel cell* (MFC). Produk samping yang dihasilkan oleh BFC pada kondisi ideal hanya berupa gas karbondioksida dan air². MFC merupakan seperangkat alat yang menggunakan mikroorganisme sebagai biokatalis untuk mengoksidasi senyawa organik dan inorganik, dan menghasilkan arus³.

Elektron yang dihasilkan dari sel mikroorganisme harus dipindahkan dari dalam membran sel menuju elektroda untuk menghasilkan arus listrik. Terdapat dua cara memindahkan elektron dari dalam membran sel menuju keluar : (i) melalui perpindahan senyawa yang tereduksi menuju keluar membran sel, dan (ii) elektron mengalir melalui membran dengan bantuan enzim redoks yang terikat pada membran. Setelah elektron berada di luar membran sel, dibutuhkan senyawa yang aktif secara elektrokimia untuk menghubungkan sel mikroorganisme dengan elektroda. Senyawa ini dapat berupa spesi redoks terlarut, protein redoks pada membran luar, atau metabolit primer yang tereduksi^{3,4}. Senyawa ini disebut sebagai mediator. Tugas mediator ialah melakukan penetrasi ke dalam membran plasma mikroorganisme, mengambil elektron yang dihasilkan dari rantai transfer elektron, dan membawanya menuju ke permukaan elektroda sehingga elektron dapat mengalir.

Indonesia terkenal sebagai negara yang memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi, salah satunya ialah mikroorganisme. Mikroorganisme yang berlimpah dan mudah ditemukan ini dapat dimanfaatkan untuk menghasilkan energi listrik melalui MFC. Akhir-akhir ini, para ahli banyak meneliti sistem MFC yang menggunakan mikroorganisme dari air limbah⁴⁻⁷. Penelitian mengenai desain alat dan modifikasi untuk mendapatkan produksi energi yang lebih tinggi juga banyak dilakukan⁸⁻¹⁰. Hal ini disebabkan oleh kurangnya pemanfaatan air limbah tersebut dan tingginya biaya yang harus dikeluarkan untuk mengolah air limbah.

Rumah potong hewan (RPH) merupakan suatu tempat pemeliharaan dan pemotongan hewan sebelum didistribusikan ke pasar-pasar.

Keberadaan RPH di Indonesia :

1. Ibukota propinsi : RPH tipe A → kapasitas pemotongan : ≥ 100 hewan/hari
2. Kabupaten : RPH tipe B → kapasitas pemotongan : ≤ 100 hewan/hari
3. Desa : RPH tipe C → kapasitas pemotongan : 5-10 hewan/hari

Data di atas menunjukkan bahwa keberadaan RPH menyebar di seluruh Indonesia dan air limbah yang dihasilkannya memiliki jumlah yang tidak sedikit. Air limbah RPH berasal dari proses pencucian dan pembilasan yang dilakukan saat pemotongan hewan. RPH Cakung Jakarta Utara pernah memanfaatkan kotoran hewan yang ada untuk menghasilkan gas metana (CH_4) kemudian dibakar dan digunakan untuk memenuhi kebutuhan listrik RPH tersebut. Namun, pada RPH lain pemanfaatan dari limbah yang ada

hanya menjadi pupuk bagi lahan di sekitarnya. Penggunaan air limbah RPH dalam sistem MFC akan meningkatkan pemanfaatannya karena selain mengolah air limbah tersebut, sistem ini juga dapat menghasilkan energi listrik yang dapat digunakan untuk menjalankan RPH tersebut.

1.2 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan potensi air limbah RPH sebagai media kultur mikroorganisme dalam menghasilkan energi listrik menggunakan sistem MFC. Tujuan lain dari penelitian ini ialah mempelajari pengaruh yang ditimbulkan dari penggunaan senyawa mediator *methylene blue* (MB), *ferrocene dicarboxylic acid* (FcDA), dan tanpa penggunaan senyawa mediator.

1.3 Hipotesis

Sistem MFC tanpa penambahan mediator akan menghasilkan listrik. Dengan penambahan mediator MB yang diimobilisasi pada elektroda akan menghasilkan listrik yang lebih tinggi. Penambahan larutan mediator FcDA pada kompartemen anoda akan menghasilkan listrik yang lebih tinggi dibandingkan dengan yang menggunakan mediator MB.

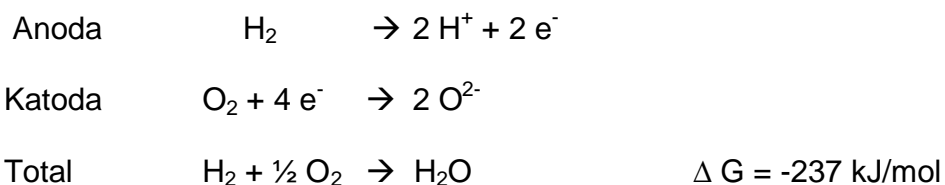
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Fuel Cell

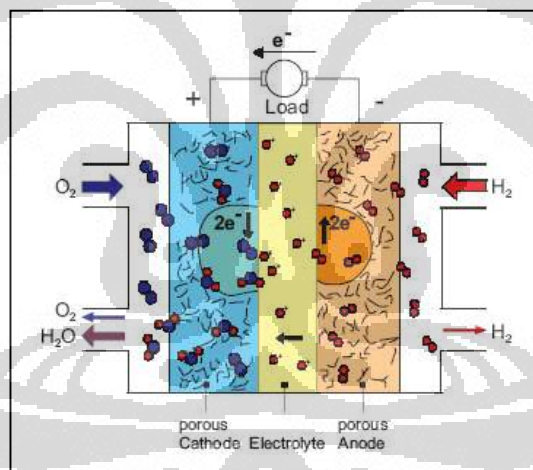
Fuel cell ialah seperangkat alat yang dapat mengubah energi kimia menjadi energi listrik dengan prinsip elektrokimia dan menggunakan suatu substrat sebagai bahan bakarnya. *Fuel cell* mengalami perkembangan pesat sejak meningkatnya kepedulian masyarakat terhadap dampak lingkungan yang diakibatkan dari penggunaan bahan bakar fosil. Bahan bakar fosil mendapatkan energi dengan mengubah energi mekanik menjadi energi listrik, sedangkan *fuel cell* mengubah energi bebas dari suatu reaksi kimia menjadi energi listrik¹.

Terdapat beberapa jenis *fuel cell* yang memiliki perbedaan pada bahan bakar yang digunakan. *Hydrogen-oxygen fuel cell* menggunakan gas hidrogen murni pada kompartemen anoda dan gas oksigen pada kompartemen katoda, sehingga hasil dari reaksi keseluruhan yang terjadi ialah air (Gambar 2.1). Reaksi yang terjadi ialah:



Proton yang dihasilkan akan mengalir menuju katoda melalui *Proton Exchange Membrane* (PEM), sedangkan elektron akan mengalir menuju katoda melalui kawat listrik. Oksigen pada katoda akan bereaksi dengan elektron dan proton menghasilkan air ¹.

Struktur dasar semua *fuel cell* hampir serupa yaitu suatu sel dengan dua elektroda yang dipisahkan oleh elektrolit dan dihubungkan melalui sirkuit eksternal. Kedua elektroda tersebut akan diberi aliran gas atau cairan sebagai sumber bahan bakar (misalnya hidrogen atau metanol). Oleh karena itu elektroda harus memiliki struktur yang berongga ¹.



Gambar 2.1 Skema *Hydrogen/Oxygen Fuel Cell* ¹

Klasifikasi *fuel cell* dapat dilakukan berdasarkan temperatur operasi yang digunakan. Ada dua jenis yaitu yang beroperasi pada temperatur tinggi dan temperatur rendah. *Fuel cell* yang bekerja pada temperatur tinggi (600-1000°C) ialah *Molten Carbonate Fuel Cell* (MCFC) dan *Solid Oxide Fuel Cell*

(SOFC). Sedangkan yang bekerja pada temperatur rendah ialah *Alkaline Fuel Cell* (AFC), *Polymer Electrolyte Membrane Fuel Cell* (PEMFC), *Direct Methanol Fuel Cell* (DMFC), dan *Phosphoric Acid Fuel Cell* (PAFC).

2.2 Polymer Electrolyte Membrane Fuel Cell (PEMFC)

PEMFC merupakan jenis *fuel cell* yang menggunakan membran penukar proton (PEM). Temperatur operasinya berkisar antara 60-120°C². PEM yang sering digunakan memiliki nama dagang Nafion[®]. Membran Nafion memiliki struktur poli-tetrafluoroetilen (PTFE) yang stabil terhadap reaksi kimia. Kemampuannya untuk memisahkan reaktan dan menghantarkan proton telah banyak terbukti efisien namun harganya cukup mahal.⁶

2.3 Polymer Electrolyte Membrane Biological Fuel Cell (PEMBFC)

PEMBFC merupakan PEMFC yang menggunakan substrat dari sumber yang terbarukan dan mengubahnya menjadi produk dengan menghasilkan listrik. PEMBFC menggunakan biokatalis untuk mempercepat reaksi kimia yang menghasilkan elektron untuk energi listrik. Reaksi kimia tersebut merupakan reaksi oksidasi substrat organik dengan oksigen atau oksidator lain dengan bantuan biokatalis.

Biokatalis yang digunakan di sini dapat berupa enzim atau bahkan seluruh sel mikroorganisme. PEMBFC dibagi menjadi dua jenis berdasarkan biokatalis yang digunakan yaitu *Enzymatic Fuel Cell* (EFC) dan *Microbial Fuel Cell* (MFC). Pemilihan penggunaannya berdasarkan biokatalis yang digunakan. Sebagian besar enzim yang berperan dalam reaksi reduksi-oksidasi tidak berperan langsung dalam rantai transfer elektron oleh karena itu dibutuhkan mediator elektron untuk menghubungkan biokatalis dengan elektroda¹³.

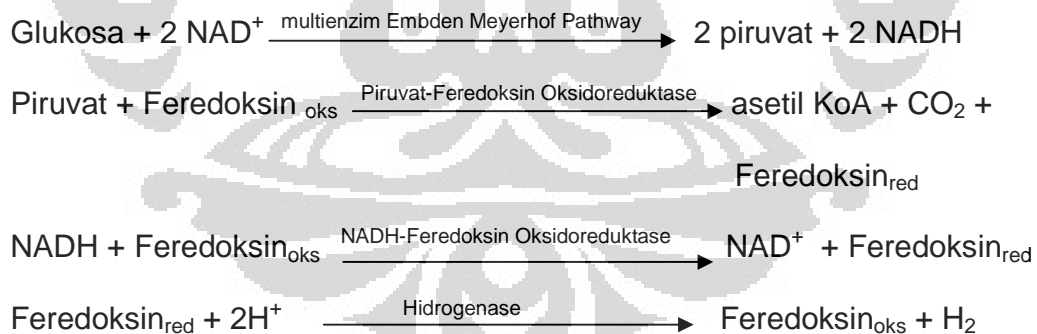
2.4 Microbial Fuel Cell (MFC)

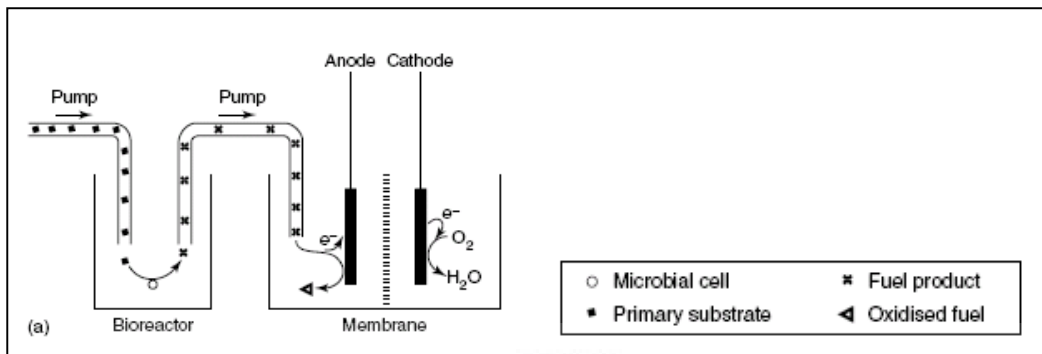
MFC merupakan seperangkat alat yang menggunakan mikroba sebagai biokatalis untuk mengoksidasi senyawa organik dan inorganik dalam metabolismenya. Elektron yang dihasilkan dialirkan melalui anoda (kutub negatif) ke katoda (kutub positif) yang dihubungkan oleh kawat penghantar atau seperangkat alat yang mengandung beban (listrik yang dihasilkan digunakan untuk menjalankan seperangkat alat tersebut)¹⁴. Sel mikroba digunakan secara keseluruhan maka tidak perlu mengisolasi enzim-enzim yang ada satu per satu.

Penelitian ini menggunakan prinsip MFC. Terdapat empat cara bagi mikroba untuk memproduksi listrik yang disesuaikan dengan desain alat yang dibuat untuk aplikasinya :

Cara pertama (Gambar 2.2), MFC dengan bioreaktor tempat mikroba hidup dibuat terpisah dari *fuel cell*. Prinsip kerja dari cara ini ialah terjadinya reaksi multienzim dari mikroba dengan substrat yang terjadi pada bioreaktor menghasilkan bahan bakar yang akan dialirkan ke anoda (*fuel cell*). Bila digunakan substrat berupa senyawa karbohidrat, maka reaksi yang terjadi ialah : pertama glukosa diubah menjadi 2 mol piruvat dan 2 mol NADH melalui *Embden Meyerhof Pathway*, kemudian piruvat dioksidasi oleh piruvat-feredoksin oksidoreduktase menghasilkan asetil KoA, CO₂, dan feredoksin tereduksi. NADH feredoksin oksidoreduktase mengoksidasi NADH dan mereduksi feredoksin. Feredoksin tereduksi kemudian dioksidasi kembali oleh enzim hidrogenase menjadi hidrogen. Hasilnya ialah 4 mol hidrogen dari 1 mol glukosa pada kondisi ideal.

Persamaan reaksinya :

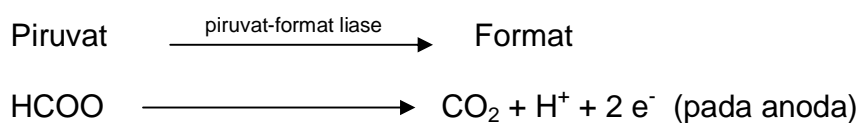




Gambar 2.2 MFC dengan bioreaktor terpisah dari *fuel cell*⁷

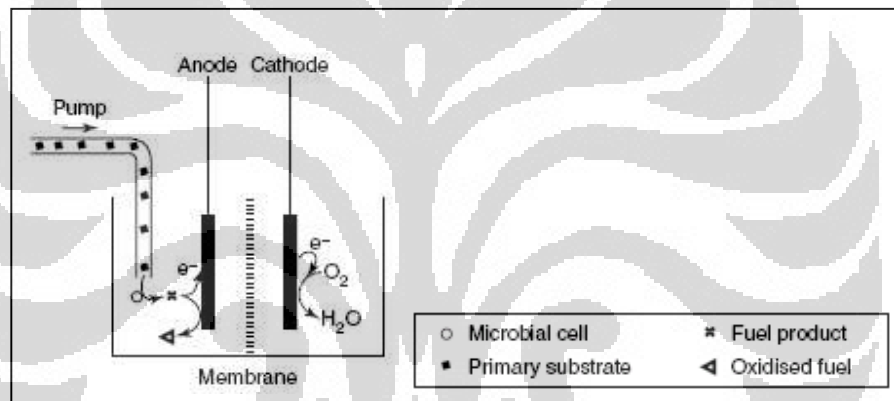
Contoh yang menggunakan jenis ini ialah *hydrogen-oxygen fuel cell*. *Fuel cell* ini dihubungkan dengan bioreaktor penghasil hidrogen. Hidrogen (H_2) ini akan dialirkan menuju kompartemen anoda dan digunakan sebagai bahan bakar. Elektron (e^-) akan diperoleh dari reaksi oksidasi hidrogen di anoda kemudian dialirkan menuju katoda, sedangkan proton (H^+) akan ditransfer melalui PEM menuju kompartemen katoda. Jika ada pasokan oksigen (O_2) di katoda, elektron dan proton akan bereaksi dengan oksigen membentuk air (H_2O)¹³.

Cara kedua (Gambar 2.3), MFC dengan mikroba yang ditempatkan pada permukaan anoda. Proses fermentasi substrat seperti glukosa akan terjadi pada permukaan elektroda dan menghasilkan gas H_2 yang akan digunakan sebagai bahan bakar. Produksi H_2 juga dapat diperoleh dengan menggunakan produk samping hasil fermentasi mikroba seperti asam format, asam asetat, dan asam laktat. Persamaan reaksinya :



Asam format dan metabolit aktif yang mengandung sulfur juga dapat diproduksi selama proses fermentasi laktat oleh *Desulfovibrio desulfuricans*.

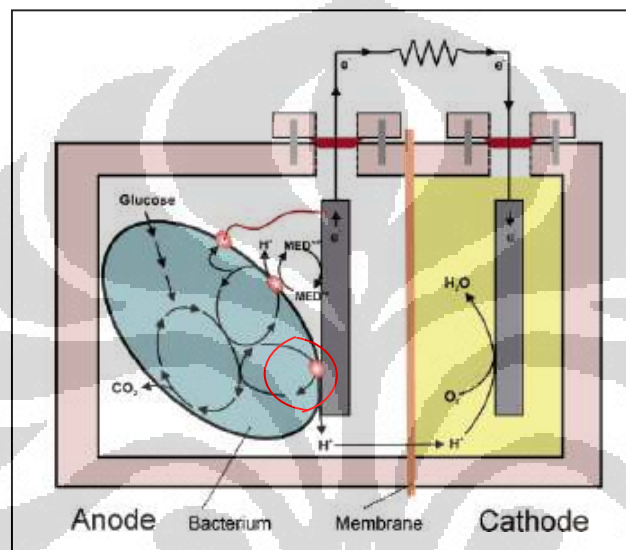
Bakteri yang telah diketahui mampu mereduksi sulfat dapat juga dimanfaatkan sebagai penghasil listrik. Persamaan reaksinya :



Gambar 2.3 MFC dengan bakteri yang ditempatkan pada anoda⁷

Cara ketiga (Gambar 2.4), MFC dengan mikroba yang dapat menghasilkan senyawa aktif elektrokimia (mediator) pada kompartemen anoda dan mikroba yang tidak dapat menghasilkan mediator. Kompartemen anoda di sini juga berfungsi sebagai bioreaktor. Spesi tereduksi yang dihasilkan oleh proses metabolisme dalam sel mikroba berada di dalam membran sel. Spesi elektroaktif yang bertanggung jawab atas aktivitas redoks ini tersimpan dalam gugus prostetik, sehingga hanya sedikit elektron

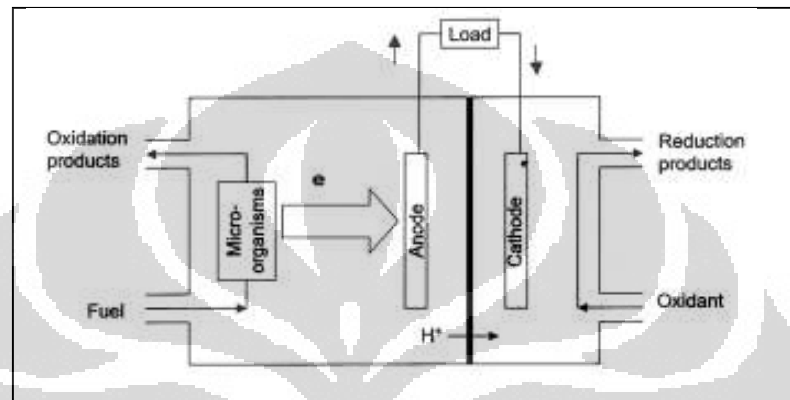
yang dapat ditransfer melintasi membran mikroba menuju ke permukaan elektroda. Oleh karena itu, dibutuhkan suatu spesi elektroaktif sebagai mediator yang akan membantu proses transfer elektron dari sel bakteri menuju permukaan anoda.



Gambar 2.4 MFC dengan kompartemen anoda sebagai bioreaktor⁸

Cara keempat (Gambar 2.4 (lingkaran merah) dan 2.5), MFC tanpa menggunakan mediator transfer elektron. Jenis ini digunakan untuk mikroba yang memiliki sitokrom pada membran luarnya sehingga mampu menghantarkan elektron ke permukaan anoda¹⁵. Mikroorganisme pereduksi Fe (III) diketahui mempunyai spesi elektroaktif pada membran luarnya sehingga mampu mentransfer elektron langsung ke anoda tanpa bantuan mediator. *Shewanella putrefaciens* merupakan mikroba yang pertama kali diketahui mampu mentransfer elektron menuju anoda tanpa mediator.

Rhodospirillum rubrum dan mikroorganisme dari famili *Geobacteraceae* merupakan mikroorganisme lain yang juga dapat mentransfer elektron secara langsung menuju anoda.



Gambar 2.5 MFC tanpa menggunakan mediator transfer elektron¹⁵

2.4.1 Desain MFC

Banyaknya penelitian yang telah dilakukan mengenai MFC ini menyebabkan para peneliti mencoba berbagai desain untuk mendapatkan hasil yang maksimal untuk proses *batch* maupun sinambung (*continuous*).

Desain MFC yang sering digunakan ialah sistem tipe H dengan dua kompartemen, karena biaya pembuatannya relatif murah¹⁶. Sistem ini terdiri dari dua botol yang dihubungkan oleh tabung dengan pemisah, biasanya berupa membran pertukaran proton (PEM) seperti Nafion[®]. Hal yang penting dalam sistem ini ialah pemilihan membran yang dapat melewatkan proton

secara optimal, namun tidak melewatkan substrat atau akseptor elektron dalam kompartemen katoda¹⁷.

Umumnya sistem tipe H ini menghasilkan densitas energi yang rendah karena dibatasi oleh hambatan internal yang tinggi serta tegangan yang hilang pada sambungan elektroda. Jumlah energi yang dihasilkan dalam sistem ini bergantung pada luas permukaan katoda dan anoda serta permukaan membran¹⁴.

Produksi energi juga dipengaruhi oleh perbandingan luas permukaan PEM dengan volume yang ada pada sistem. Hambatan dalam sistem MFC akan menurun seiring meningkatnya luas permukaan PEM.

2.4.2 Elektroda

Ada bermacam material yang dapat digunakan sebagai elektroda dalam sistem MFC, seperti platina, platina hitam, grafit, *carbon-cloth*, karbon pasta, dan lain-lain. Hal yang perlu diperhatikan ialah material elektroda harus konduktif, secara kimia stabil dalam larutan reaktor, dan sesuai untuk makhluk hidup. Pemilihan material anoda akan sangat berpengaruh terhadap performa MFC. Platina merupakan material elektroda yang sangat baik namun harganya mahal, maka sebagai alternatif lain dapat digunakan material karbon sebagai elektroda. Karbon dapat berbentuk lempengan grafit

(batang atau granula), material berserat seperti bahan kain, dan *glassy carbon*.

Dalam penelitian ini elektroda yang digunakan merupakan lempengan arang kayu besi yang berasal dari Palembang. Bentuk awal dari elektroda ini berupa bongkahan arang kayu, sehingga harus dilakukan pemilihan bongkahan arang yang diambil. Pemilihan dilakukan berdasarkan ukuran bongkahan. Bongkahan arang kayu besi ini akan dipotong sesuai bentuk yang diinginkan menggunakan *diamond blade*.

Kawat yang digunakan ialah kawat Nikel-Crom (Ni-Cr) yang merupakan kawat yang sering digunakan untuk menghantarkan listrik. Kawat ini disebut juga kawat jumper.

2.4.3 Elektrolit

Kompartemen katoda dan anoda diberi larutan buffer untuk menjaga pH larutan agar tidak terjadi pergeseran pH secara drastis. Sesungguhnya pergeseran pH tidak akan terjadi bila kecepatan reaksi proton, elektron, dan oksigen pada katoda sama dengan kecepatan produksi proton pada anoda. Namun hal ini tidak mungkin terjadi karena terdapat halangan dari membran sehingga kecepatan proton melalui membran lebih lambat dibandingkan kecepatan produksinya di anoda dan kecepatan konsumsinya di katoda. Tidak adanya pergeseran pH ini dapat meningkatkan arus sebesar satu

sampai dua kali lipatnya. Menambahkan larutan elektrolit seperti NaCl dapat meningkatkan konduktivitas anoda dan katoda sehingga meningkatkan energi yang dihasilkan. Keberadaan proton pada katoda merupakan salah satu faktor pembatas dalam menghasilkan listrik¹².

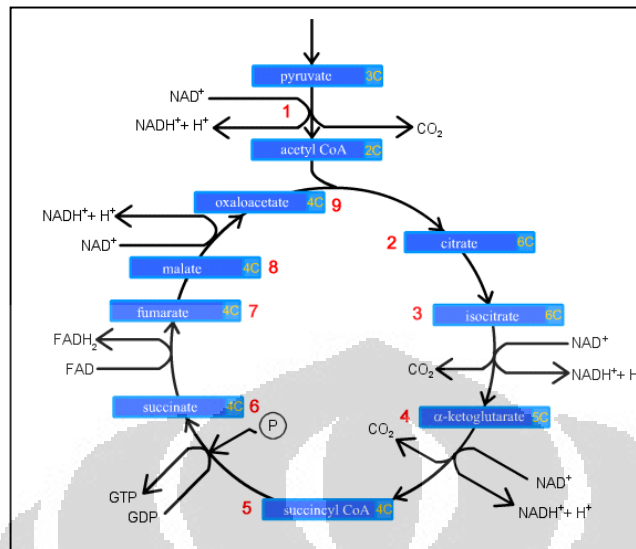
Dalam kompartemen katoda digunakan larutan *kalium hexacyanoferrat* ($K_3[Fe(CN)_6]$) sebagai akseptor elektron dalam sistem MFC ini. Spesi ini sangat baik dalam menangkap elektron dengan harga potensial reduksi standar sebesar +0,36 V. Kelebihan dari penggunaan larutan ini ialah *overpotensial* yang rendah dengan katoda karbon. Namun kelemahannya ialah tidak sempurnanya proses reoksidasi oleh oksigen sehingga larutan ini harus diganti setiap pemakaian.

2.4.4 Reaksi Pada Kompartemen Anoda dan Katoda

Penelitian kali ini menggunakan MFC dengan cara ketiga dan keempat yaitu dengan menambahkan mediator dan tanpa menambahkan mediator pada kompartemen anoda. Kultur mikroorganisme yang digunakan berasal dari substrat yang digunakan yaitu air limbah RPH. Dari beberapa penelitian telah diketahui bahwa dapat dihasilkan energi listrik dengan menggunakan kultur mikroorganisme yang berasal dari air limbah itu sendiri dan tanpa penambahan mediator^{18,19}. Diduga terdapat mikroorganisme yang dapat menghasilkan senyawa elektroaktif yang berperan sebagai mediator transfer

elektron. Pada penelitian ini tidak dilakukan identifikasi jenis mikroorganisme apa saja yang ada dalam air limbah RPH, dan dilakukan juga penambahan mediator MB dan FcDA.

Reaksi pada kompartemen anoda ialah metabolisme mikroba yang terdapat dalam air limbah dalam mengoksidasi senyawa organik yang terkandung dalam air limbah RPH tersebut. Contoh yang paling sederhana ialah mikroba mengambil glukosa dari air limbah dan melalui proses glikolisis menghasilkan 2 molekul piruvat, 2 ATP, dan 2 NADH. Proses ini terjadi pada sitosol sel. Kemudian molekul piruvat diubah menjadi asetil Ko-A, 2 CO₂, dan 2 NADH melalui proses dekarboksilasi oksidatif. Asetil Ko-A kemudian masuk ke dalam siklus Krebs dan diubah menghasilkan 4 NADH, 2 NADPH₂, 2 FADH₂, dan 2 ATP. Dalam siklus ini yang paling banyak dihasilkan ialah karbondioksida dan elektron. Elektron tersebut disimpan dalam bentuk NADH yang akan masuk ke dalam rantai pernapasan dan teroksidasi menjadi NAD⁺ dan melepaskan elektronnya. Elektron paling banyak dihasilkan dalam proses oksidasi fosforilatif. Dalam keadaan aerob, akseptor elektron terakhirnya ialah oksigen. Akan tetapi, dalam sistem MFC yang berperan sebagai akseptor elektronnya ialah senyawa mediator yang akan tereduksi dalam membrane sel mikroorganisme kemudian teroksidasi pada anoda dan melepaskan sejumlah elektron yang akan mengalir menuju katoda. Hasil metabolisme senyawa organik pada kompartemen anoda juga akan menghasilkan H⁺ yang akan melewati PEM menuju kompartemen katoda.



Gambar 2.6 Siklus Krebs

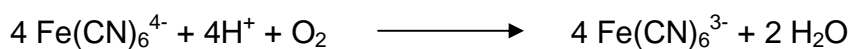
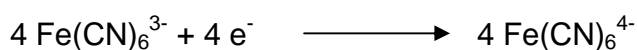
Anoda pada penelitian ini akan diisi oleh larutan buffer fosfat pH 7,0 dan air limbah RPH. Katoda pada penelitian ini akan dialiri dengan udara untuk menjaga pasokan oksigen dan menggunakan elektroda arang kayu besi. Kompartemen katoda akan diisi larutan *kalium hexacyanoferat* ($K_3Fe(CN)_6$) dan larutan buffer fosfat untuk menjaga pH 7,0. Reaksi yang terjadi pada kompartemen katoda ialah pembentukan H_2O dari H^+ , elektron, dan oksigen yang terdapat di dalamnya.

Reaksi yang terjadi pada anoda dan katoda dapat ditulis seperti :

Reaksi di anoda :



Reaksi di katoda :



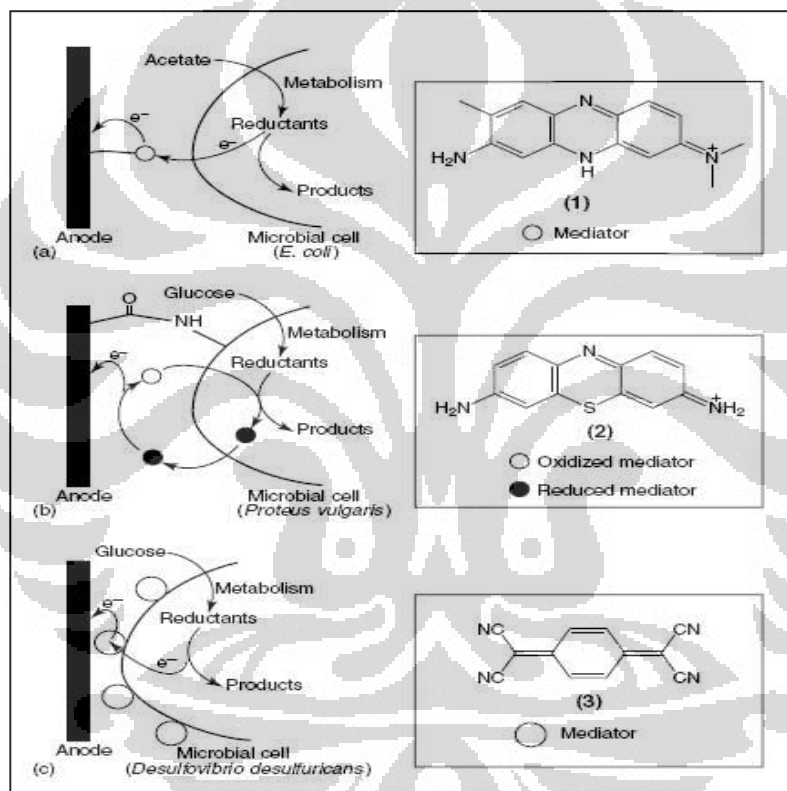
2.4.5 Mediator Transfer Elektron

Mediator merupakan senyawa elektroaktif yang mampu mengambil elektron dari proses metabolisme sel mikroba, mengantarkannya ke permukaan anoda, dan melepaskannya sehingga sel elektrokimia dapat menghasilkan arus listrik. Terdapat tiga cara yang dapat dilalui mediator¹³ (Gambar 2.7), yaitu :

1. Mediator yang terlarut dalam kompartemen anoda bersama suspensi mikroorganisme dapat berdifusi masuk ke dalam membran plasma mikroorganisme mengambil elektron dari rantai transfer elektron, dan melepaskannya pada permukaan anoda
2. Mediator yang terikat secara kovalen dengan elektroda dan ditempatkan dalam kompartemen anoda bersama suspensi mikroorganisme. Mediator dapat berdifusi masuk ke dalam membran plasma mikroorganisme, mengambil elektron dari rantai transfer elektron, dan melepaskannya pada permukaan anoda
3. Mediator yang terikat pada permukaan sel mikroba sehingga mengalirkan elektron langsung dari sel ke anoda.

Sebuah mediator yang ideal harus memiliki beberapa syarat yaitu : mediator teroksidasi mudah memasuki membran bakteri untuk mencapai spesi tereduksi dalam bakteri, potensial redoks mediator harus sesuai dengan potensial metabolit tereduksi, tidak ada tingkat oksidasi mediator

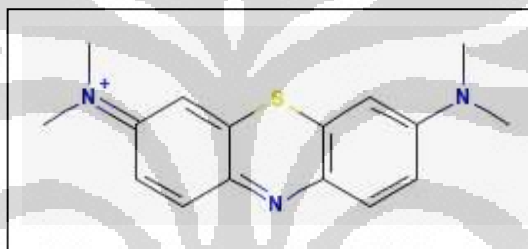
yang ikut campur dalam proses metabolisme bakteri, mediator yang tereduksi harus dapat mudah keluar dari membran sel, stabil pada kondisi tereduksi maupun teroksidasinya dalam larutan elektrolit, tidak boleh menempel pada sel bakteri maupun permukaan anoda, dan laju reaksi elektrokimia dari proses oksidasi mediator tereduksi pada anoda harus cepat¹⁵.



Gambar 2.7 Tiga macam cara kerja mediator dalam PEMMFC¹³

Pada penelitian ini dilakukan penambahan mediator MB dan *FcDA*. MB (*Tetramethylthionine chloride*) merupakan senyawa kimia heterosiklik aromatis dengan rumus molekul $C_{16}H_{18}ClN_3S$, memiliki berat molekul 319,85 g/mol dan titik leleh $100^{\circ}C$. Pada temperatur ruang, MB akan berbentuk

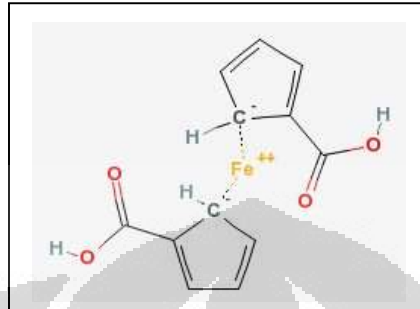
padatan biru dan dalam air akan terlarut menjadi larutan biru. Dalam bidang kimia, MB banyak digunakan sebagai indikator redoks dalam kimia analisis. MB memiliki elektron bebas pada atom N sehingga diperkirakan senyawa tersebut dapat dioksidasi dan direduksi kembali membentuk pasangan redoks. Senyawa MB ini telah banyak digunakan sebagai mediator dalam MFC. Pengujian sifat elektroaktif dari MB dilakukan dengan menggunakan *cyclic voltametry*. Elektron yang terlibat dalam proses redoks senyawa ini ada dua buah.



Gambar 2.8 Struktur MB

Ferrocene dicarboxylic acid, $\text{Fe}(\text{C}_5\text{H}_5)_2$, selanjutnya disingkat FcDA, merupakan senyawa kimia organometalik dengan dua cincin siklopentadienil yang terikat pada atom Fe. Senyawa ini memiliki struktur "sandwich" karena adanya tarikan orbital d pada logam Fe yang membentuk ikatan dengan hidrokarbon siklopentadienil. Konfigurasinya stabil karena FcDA memiliki 6 pasang elektron phi pada masing-masing cincin siklopentadienil yang diserahkan pada ion Fe^{2+} . Berat molekulnya 185,847 g/mol, titik leleh 174-176°C, titik didih 249°C, densitas 1,49 g/mL, berwarna kuning jingga, dan

agak larut dalam air. Elektron yang terlibat dalam proses redoksnya hanya satu buah.



Gambar 2.9 Struktur FcDA

2.4.5.1 Uji Aktivitas Antimikroba Mediator

Mediator yang akan digunakan dalam kompartemen anoda harus diuji terlebih dahulu aktivitas antimikrobanya. Hal ini diperlukan karena sebagian besar sifat senyawa mediator toksik terhadap makhluk hidup, oleh karena itu perlu diketahui dosis mediator yang masih aman untuk mikroorganisme dalam kompartemen anoda.

Zat pembanding yang digunakan dalam uji aktivitas antimikroba ini ialah air steril dan larutan antibiotik. Hal ini dimaksudkan untuk melihat pada kondisi yang sama air steril seharusnya tidak memberi hambatan dan larutan antibiotik seharusnya memberi hambatan yang besar.

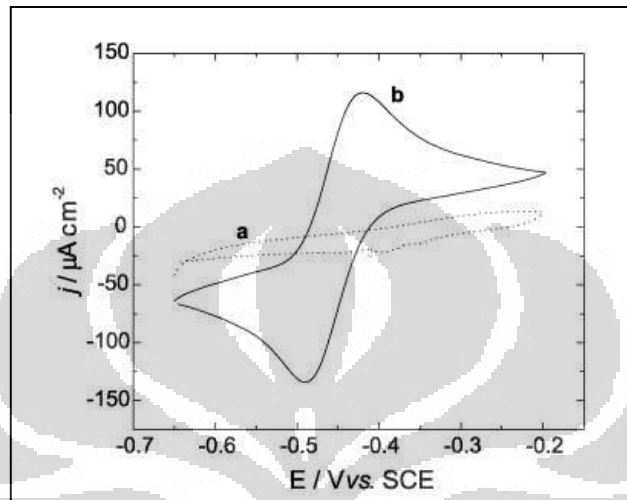
2.5 Voltametri Siklik (*Cyclic Voltametry*)

Voltametri siklik atau CV merupakan teknik analitis yang mampu memberi informasi mengenai karakteristik proses elektrokimia yang terjadi dalam larutan. Tujuan penggunaan CV ialah untuk mengamati ada tidaknya pasangan redoks sederhana dalam larutan. Teknik voltametri terbagi dua menurut sapuan potensial kerja yang digunakan yaitu *Linear Sweep Voltametry* (LSV) dan *Cyclic Voltametry* (CV)²⁰. Pada LSV data yang dapat diamati hanya berupa informasi reduksi atau oksidasi saja karena hanya dilakukan satu kali sapuan. Sedangkan pada CV dapat diamati keduanya karena dilakukan sapuan bolak-balik.

Pengukuran CV membutuhkan potensiostat dan tiga buah sel elektroda. *Linear potential sweep* akan dilakukan dari E1 ke E2 lalu dilakukan *reverse sweep* kembali ke E1. Tiga buah sel elektroda tersebut ialah sel elektroda pembanding Ag/AgCl, sel elektroda *counter* Platina, dan sel elektroda kerja yang kita gunakan.

Data yang didapat berupa voltamogram, yaitu plot arus sebagai potensial kerja yang diterapkan. Pada *linear potential sweep* elektroda kerja dianggap sebagai anoda maka akan mengalami proses oksidasi sedangkan pada *reverse sweep* elektroda kerja akan dianggap sebagai katoda maka akan mengalami proses reduksi. Dalam voltamogram dapat diamati puncak

arus oksidasi dan reduksi yang dihasilkan. Bila reaksi redoks 100% bolak-balik (*reversible*) maka puncak arus oksidasi dan reduksinya akan sebanding.



Gambar 2.10 Voltamogram reversibel¹⁵

2.6 Air Limbah RPH

Air limbah (*wastewater*) ialah segala jenis air yang kualitasnya telah menurun karena pengaruh antropogenik (buatan manusia). Air limbah RPH sebagian besar terdiri dari air sebagai bilasan, mikroorganisme (bakteri, virus, cacing, dan lain-lain), partikel organik (rambut, makanan, feses, dan lain-lain), dan partikel anorganik (pasir, logam, dan lain-lain).

Bakteri yang terkandung dalam air limbah dapat berasal dari dua sumber, yang pertama ialah bakteri yang memang berada dan hidup dalam air (*the true water bacteria*) dan yang kedua ialah bakteri yang sering

ditemukan di air namun bukan berasal dari air melainkan dari tanah, air buangan (*sewage*), dan hasil pekerjaan manusia²².

Air limbah RPH yang diambil untuk digunakan dalam penelitian ini telah ditambahkan bibit mikroorganisme dengan nama dagang EM4 (*Effective Microorganism 4*) untuk pengolahan limbah. EM4 merupakan kultur campuran dari berbagai mikroorganisme menguntungkan, sebagian besar terdiri dari bakteri fotosintetik, bakteri asam laktat (*Laktobacillus sp.*), *Actinomyces sp.*, *Streptomyces sp.*, jamur fermentasi, dan ragi (*yeast*). Manfaat dari penambahan EM4 ini ialah mempercepat proses fermentasi limbah organik, menurunkan kadar Biochemical Oxygen Demand (BOD) dan Chemical Oxygen Demand (COD), menekan bau yang tidak sedap (H_2S dan amonia), menekan perkembangan mikroorganisme patogen, dapat digunakan sebagai pupuk organik, serta tidak merusak lingkungan.

2.6.1 Penghitungan Jumlah Sel

Penelitian ini menggunakan mikroorganisme dalam kompartemen anoda maka perlu diketahui jumlah mikroorganisme yang akan digunakan. Mikroorganisme tidak dapat dilihat dengan mata telanjang maka ada beberapa cara yang dapat digunakan untuk menghitung jumlah mikroorganisme ini yaitu dengan kamar hitung / *counting chamber* (CC),

metoda hitungan cawan / *total plate count* (TPC), dan *optical density* (OD) menggunakan spektrofotometri.

Metode CC digunakan hanya untuk sel-sel yang cukup besar seperti ragi dan kapang, metode OD dengan spektrofotometri saja tidak cukup untuk menghitung jumlah sel karena prinsip OD ialah mengenai absorbansi namun kekeruhan dalam air limbah tidak hanya berasal dari mikroorganisme tapi juga kotoran, maka hasil yang didapat kurang tepat sehingga lebih baik menggunakan prinsip TPC. Metode TPC hanya menghitung jumlah koloni yang hidup. Kekurangan dari metode ini ialah memerlukan waktu inkubasi sehingga lebih lama. Metode TPC dapat digabungkan dengan metode OD dengan cara melakukan pengukuran OD dari seri pengenceran metode TPC. Gabungan kedua metode ini memberi keuntungan yaitu dengan melakukan pengukuran OD dari simpanan air limbah yang sama dapat dikorelasikan dengan jumlah mikroorganisme dari metode TPC²³.

2.7 Teknik Pengambilan Sampel

Tujuan dari pengambilan sampel ialah mengumpulkan volum sesuatu badan air yang akan diteliti, dengan jumlah tertentu yang dapat mewakili komposisi keseluruhan, yaitu masih mempunyai semua sifat-sifat yang sama dengan badan air tersebut²⁴. Dalam penelitian terhadap suatu badan air

terdapat 3 langkah : (1) pengambilan sampel, (2) transportasi serta pengawetan sampel, dan (3) analisa kimia sampel.

2.7.1 Pengambilan Sampel

Ada beberapa persiapan yang harus dilakukan sebelum mengambil sampel. Botol atau alat pengambil sampel yang akan digunakan harus dicuci bersih lalu dibilas dengan akuades serta cairan yang akan mengisi botol tersebut. Kontaminasi dari logam atau bahan dari alat pengambil sampel yang dapat larut di dalamnya harus dicegah. Contohnya besi, kuningan, perunggu dapat larut dalam air yang bersifat asam atau basa, dan bahan plastik serta karet dapat larut dalam air buangan industri yang mengandung pelarut organik. Sampel sebaiknya diambil hingga botol terisi penuh dan ditutup rapat untuk menghindari kontak dengan udara.

Pengamatan terhadap suatu badan air atau tempat penampungan air limbah perlu dilakukan sebelum *sampling*. Perlu diketahui waktu air limbah paling banyak dihasilkan dan berasal dari kegiatan apa. Tujuan pengambilan sampel ini ialah sebagai substrat yang mengandung mikroorganisme dan senyawa-senyawa organik.

2.7.2 Transportasi serta Pengawetan Sampel

Salah satu cara pengawetan sampel yang umum adalah suasana dingin; sampel diangkut dalam kotak isothermis yang mengandung es biasa atau es kering (CO_2) lalu disimpan di kulkas atau freezer.

Walaupun telah dilakukan pencegahan kontaminasi dan pengawetan namun tetap ada beberapa gangguan yang dapat timbul selama pengangkutan dan penyimpanan, seperti : (1) gas O_2 atau CO_2 dapat diserap air atau lenyap dari sampel ke udara, (2) zat tersuspensi dapat membentuk flok-flok sendiri dan mengendap dan cairan yang ringan seperti lumpur lemak dan minyak dapat mengapung pada permukaan, maka sebelum analisa harus disuspensikan lagi secara merata, (3) lumut, ganggang, dan jamur dapat tumbuh dalam sampel yang tidak disimpan pada tempat gelap dan dingin, zat organik (seperti BOD dan COD) akan terus dicerna oleh bakteri aktif, (4) populasi bakteri dapat berubah hanya dalam waktu beberapa jam saja hingga menjadi gangguan dalam analisa mikrobiologi²⁴.

2.7.3 Analisis Kimia Sampel

Sampel air limbah RPH yang didapat akan dianalisis kandungan glukosa dan protein yang terkandung didalamnya. Dengan mengetahui hal

tersebut dapat dilakukan pengembangan lebih lanjut dari pemanfaatan air limbah RPH.

Penentuan kadar protein dapat dilakukan dengan dua metode, Biuret dan Lowry. Prinsip dari kedua metode tersebut kurang lebih sama, perbedaannya hanya terdapat pada sensitifitasnya dimana metode Lowry lebih sensitif daripada metode Biuret. Maka dari itu sejak ditemukan metode Lowry, metode Biuret jarang digunakan. Prinsip metode Lowry ialah ion Cu^{2+} akan membentuk senyawa kompleks dengan ikatan peptida pada suasana basa dan tereduksi menjadi Cu^+ . Ion Cu^+ dan gugus radikal dari tirosin, triptofan, dan sistein akan bereaksi dengan Follin Ciocalteu dan membentuk produk tidak stabil yang akan tereduksi dan berwarna biru molibdenum²⁴.

Tujuan penghitungan kadar protein ini ialah untuk mengetahui berat kering sel dalam air limbah sehingga dapat dihitung besar arus teoritis yang dihasilkan.

Penentuan kadar glukosa dapat dilakukan dengan tiga metode, Somoygi Nelson, Folin Wu, dan HPLC. Prinsip dari metode Somoygi Nelson dan Folin Wu kurang lebih sama, perbedaannya ialah metode Somoygi Nelson lebih spesifik untuk menghitung kadar gula pereduksi sedangkan Folin Wu mengamati sifat amilum yang berubah menjadi gula pereduksi setelah mengalami hidrolisis²⁵. Namun kedua metode ini tidak dapat digunakan untuk menentukan campuran gula-gula pereduksi. Maka digunakan metode HPLC dengan kolom SCR, fasa gerak akuabides, dan

detektor *Refraction Index Detector* (RID). Kolom SCR dan detektor RID digunakan untuk analisa karbohidrat.

Detektor RID yang digunakan sangat sensitif terhadap perubahan suhu ruang, tekanan, dan kecepatan alir fasa gerak. Namun keuntungannya, ia dapat mendeteksi senyawa non-ionik, tidak dapat menyerap sinar UV dan tidak berfluorescence. Prinsip dari detektor ini ialah refraktometer mendeteksi perubahan arah sinar yang disebabkan oleh perbedaan indeks refraksi zat yang ada di antara sel sampel dan sel referensi²⁶.



BAB III

BAHAN DAN CARA KERJA

3.1 Peralatan dan Bahan

3.1.1 Peralatan

Peralatan yang dibutuhkan ialah : peralatan gelas (tabung reaksi, erlenmeyer, beaker glass, spatula, botol timbang, pipet ukur, pipet tetes, labu ukur, gelas ukur, dan corong), oven, kompartemen MFC yang didesain khusus dari botol reagen merek DURAN[®], botol sampel, cawan petri, *micro pipet* dan *tip*, *hot plate* dan *stirrer*, magnetic *stirrer*, elektroda *Glassy Carbon*, elektroda *Pt-Flag*, neraca analitik, botol semprot, pipet suntik, penyaring, lampu spiritus, penjepit kayu, baskom, pH meter, dan alat vortex.

3.1.2 Instrumen

Instrumen yang digunakan antara lain : Digital Multimeter *Protek 560*, *Otoklaf DSK 6508 Ogawa Seiki Co LTD*, *cyclic voltametry EA160* Potensiostat, *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)*, Spektrofotometer UV-Vis *Spectronic 20 Genesis* ,dan *Sonicator 'Branson'*.

3.1.3 Bahan-bahan

Penelitian ini menggunakan bahan seperti : PEM (*Polymer proton Exchange Membrane*) Nafion[®]-112, kawat Ni-Cr, lem silikon, NA (*Nutrient Agar*) (Oxoid), kapas, kain kasa, tali kasur, alkohol 70%, larutan Dettol[®] (desinfektan) *methylen blue* (Merck), *ferrocene dicarboxylic acid*, akuades, akuabides, $K_3Fe(CN)_6$, KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , $C_6H_{12}O_6$, $CuSO_4 \cdot 5 H_2O$, K-Na Tartrat, Follin Ciocalteu, H_2SO_4 , NaOH, HCl, Na_2CO_3 , H_2O_2 , NaCl, kertas saring Whatman no. 40, *alumina slurry*, kertas saring, resin penukar anion, resin penukar kation, dan *cellulose nitrate membrane*.

3.2 Cara Kerja

3.2.1 Pembuatan Elektroda

Elektroda yang digunakan ialah elektroda arang kayu besi dengan modifikasi. Elektroda dibuat dengan cara memotong arang kayu besi dari bentuk alaminya menjadi ukuran yang diinginkan dengan *diamond blade*. Dalam penelitian dilakukan dua kali pemotongan dengan dua macam bentuk yaitu lingkaran dan persegi panjang. Elektroda berbentuk lingkaran memiliki diameter 3 cm dan tebal 2 mm. Elektroda berbentuk persegi panjang memiliki ukuran panjang x lebar x tinggi yaitu 3 cm x 2 mm x 1 cm. Selanjutnya, kawat

Ni-Cr ditempelkan pada elektroda dengan lem silikon. Kawat harus bersentuhan langsung dengan elektroda arang kayu besi.

3.2.2 Pengambilan Sampel Air Limbah RPH

Air limbah RPH diambil dari RPH Depok Jl Sawangan Raya Kelurahan Rangkapan Jaya Kecamatan Pancoran Mas. Dari tujuh kolam penampungan air limbah dilakukan *sampling* pada tiga kolam yaitu kolam nomor dua, tiga, dan empat. Pengambilan air limbah menggunakan gelas plastik kemudian dicampur dalam satu ember untuk dituang ke dalam botol-botol sampel. Dalam perjalanan, botol-botol sampel dimasukkan ke dalam *cool box* berisi batu es. Setelah sampai di laboratorium, botol yang berisi air limbah disimpan di dalam kulkas.

3.2.3 Sifat Elektroaktif Mediator

Elektroda yang digunakan pada *cyclic voltametry* ialah *glassy carbon*. *Glassy carbon* dibersihkan dengan *alumina slurry*, dibilas akuades, dibersihkan dengan sonikator, kemudian dibersihkan secara elektrokimia dengan susunan sel: *glassy carbon* (elektroda kerja), Pt-Flag (elektroda *Counter*), Ag/AgCl (elektroda pembanding), larutan KCl 0,1 M, dan larutan

elektrolit H_2SO_4 0,05 M. Pembersihan dilakukan dengan *scan rate* 100mV/s, 20 *cycles*, kisaran potensial -1 V sampai 1 V.

MB dan FcDA dilarutkan dalam buffer fosfat pH 7,0 sehingga konsentrasinya 1 mM, lalu diuji sifat elektrokimianya dengan metode *cyclic voltametry* (CV) dengan susunan sel ; *glassy carbon* (elektroda kerja), Pt-Flag (elektroda counter), Ag/AgCl (elektroda pembanding), larutan KCl 0,1 M, dan larutan MB/FcDA. Pengukuran dilakukan dengan variasi *scan rate* dari 20 mV/s, 50 mV/s, 100 mV/s, 200 mV/s, dan 250 mV/s masing-masing 5 *cycles* dan *range* potensial -700 mV sampai +800 mV untuk MB dan 0 mV sampai 800 mV untuk FcDA.

3.2.4 Imobilisasi Mediator pada Elektroda

Mediator MB akan diimobilisasi pada elektroda arang kayu besi dengan cara perendaman. Lama perendaman elektroda arang dalam larutan MB 10 mM dilakukan dengan beberapa variasi yaitu 1 jam, 3 jam, 6 jam, 9 jam, dan 24 jam. Elektroda dibersihkan seperti yang dilakukan untuk pengukuran CV dan dikeringkan dalam oven 100°C selama ± 5 menit. MB yang terimobilisasi pada elektroda kerja diuji sifat elektrokimianya menggunakan metode CV dengan susunan sel: elektroda arang kayu besi (elektroda kerja), Pt-Flag (elektroda *Counter*), Ag/AgCl (elektroda pembanding), larutan KCl 0,1 M dan larutan buffer fosfat 100 mM pH 7,0.

Pengukuran CV dilakukan dengan *scan rate* 100 mV/s masing-masing 5 *cycles* dengan kisaran potensial -1000 mV sampai 1000 mV.

3.2.5 Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

Bubuk *nutrient agar* (NA) ditimbang sebanyak 2,8089 gram dan dilarutkan dalam 100 mL akuades. Campuran dididihkan sambil diaduk sampai larut dan warna larutan menjadi kuning jernih. Larutan NA kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing ± 10 mL dan ditutup dengan sumbat kapas kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C.

3.2.6 Penghitungan Jumlah Sel (TPC)

Metode TPC digunakan untuk menghitung jumlah koloni mikroba dalam 1 mL air limbah RPH. Penghitungan jumlah mikroorganisme dengan metode TPC membutuhkan pengenceran berseri yaitu 1:10³, 1:10⁴, 1:10⁵, dan 1:10⁶. Pengenceran dilakukan menggunakan akuades steril hingga volume 10 mL.

Air limbah dikocok dengan alat vortex kemudian dipipet 1 mL ke tabung pertama yang kosong kemudian diencerkan hingga 10 mL dengan akuades steril, lalu tabung pertama dikocok dengan alat vortex kemudian

dipipet 1 mL ke tabung kedua, begitu seterusnya hingga tabung keenam. Tabung ketiga dikocok dengan vortex lalu diambil 1 mL untuk dimasukkan ke dalam cawan petri dan dituang media NA cair dengan suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$. Setiap pengenceran dilakukan duplo. Cawan petri diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam, Pencatatan dilakukan pada 24 jam dan 48 jam.

3.2.7 Uji Aktivitas Antimikroba Mediator

Uji aktivitas antimikroba membutuhkan empat cakram masing-masing untuk akuades steril, cairan Dettol[®] sebagai larutan desinfektan, FcDA 10 mM, dan MB 10 mM. Cawan petri diisi dengan 1mL air limbah dan media NA cair lalu diaduk merata. Setelah mengeras, cakram yang telah dicelupkan ke dalam empat macam larutan berbeda diletakkan di atasnya. Cawan petri diinkubasi pada temperatur 30°C selama 48 jam. Pengamatan dilakukan pada 24 jam dan 48 jam.

3.2.8 Penyiapan MFC dan Pengukuran Listrik

Desain MFC yang dipakai dalam penelitian ini mengacu pada hasil penelitian terdahulu^{16,17} yaitu sistem MFC dua kompartemen (anoda dan katoda) yang dipisahkan oleh membran penukar proton (PEM). Elektroda diatur sedemikian rupa sehingga berada tepat di depan mulut silinder yang

berhadapan satu sama lain dan memiliki jarak sedekat mungkin yaitu ± 6 cm. Parameter pengukuran listrik yang dicatat ialah voltase (mV) dan arus listrik (μ A). Untuk mengurangi kesalahan, dalam satu kali pengukuran hanya dibaca satu parameter saja. Sebelum dilakukan pencatatan, sistem MFC diberi waktu adaptasi selama 5 menit. Variasi pengukuran listrik yang dilakukan pada sistem ialah :

1. tanpa penambahan mediator
2. dengan mediator diimobilisasi pada elektroda
3. dengan mediator diimobilisasi pada elektroda dan *feeding* glukosa
4. dengan mediator dalam bentuk larutan

Kompartemen katoda berisi campuran larutan 75 mL $K_3Fe(CN)_6$ 100 mM dan 75 mL larutan buffer fosfat 100 mM pH 7,0. Larutan ini diaerasi dengan udara selama pengukuran berlangsung^{16,17}.

Kompartemen anoda berisi 75 mL air limbah RPH pada suhu ruang dan 75 mL larutan buffer fosfat steril 100 mM pH 7,0. Campuran ini diaduk menggunakan pengaduk magnet selama pengukuran.

Pengukuran listrik tanpa mediator menggunakan elektroda yang tidak diimobilisasi dengan senyawa mediator. Pengukuran listrik dengan mediator MB menggunakan elektroda yang telah direndam dalam larutan MB selama 24 jam. Feeding glukosa 1,1 M sebanyak 5 mL dilakukan pada menit ke 15 dan 45.

Pada variasi menggunakan mediator FcDA dalam bentuk larutan, kompartemen anoda diisi 75 mL air limbah RPH, 1 mL larutan FcDA 10 mM dan 74 mL larutan buffer fosfat steril 100 mM pH 7,0. Campuran ini diaduk menggunakan pengaduk magnet selama pengukuran

PEM yang digunakan berbentuk lingkaran dengan diameter 3 cm. Sebelum digunakan dalam pengukuran listrik, PEM diberi perlakuan pendahuluan, yaitu dididihkan dengan larutan H₂O₂ 3%, dicuci dengan akuabides, dan dididihkan kembali menggunakan H₂SO₄ 1 M. PEM dicuci beberapa kali dengan akuabides panas, dikeringkan, lalu direndam dalam larutan NaCl 2% selama 3 jam. PEM selanjutnya dibilas dengan akuabides untuk siap digunakan²⁴.

3.2.9 Analisis Kimia Sampel

Analisis kadar protein dalam keseluruhan sel mikroorganisme membutuhkan perlakuan khusus, yaitu sebanyak 2 mL suspensi sel dicampur dengan 1 mL NaOH 3 N dan dimasukkan ke dalam penangas air mendidih kemudian didinginkan dengan aliran air. Perlakuan ini berfungsi untuk menghancurkan sel dan melarutkan seluruh proteinnya. Setelah perlakuan ini analisis dilanjutkan sesuai metode Lowry. Untuk itu perlu disiapkan pereaksi Lowry, larutan standar *Bovine Serum Albumin* (BSA) 400 ppm, dan larutan Follin Ciocalteu 1 N. Pereaksi Lowry terdiri dari 1 mL CuSO₄ 1%, 1 mL K-Na

Tartrat 2,7% yang diencerkan hingga 100 mL menggunakan Na_2CO_3 dalam NaOH 0,1 N.

Tabung reaksi diisi dengan akuades, larutan standar BSA, dan sampel air limbah hingga volumenya 0,5 mL lalu ditambahkan 5 mL pereaksi Lowry dan diamkan 10 menit. Selanjutnya ditambahkan 0,5 mL larutan Follin Ciocalteu 1 N dan didiamkan lagi 30 menit. Larutan siap diukur pada panjang gelombang 700 nm.

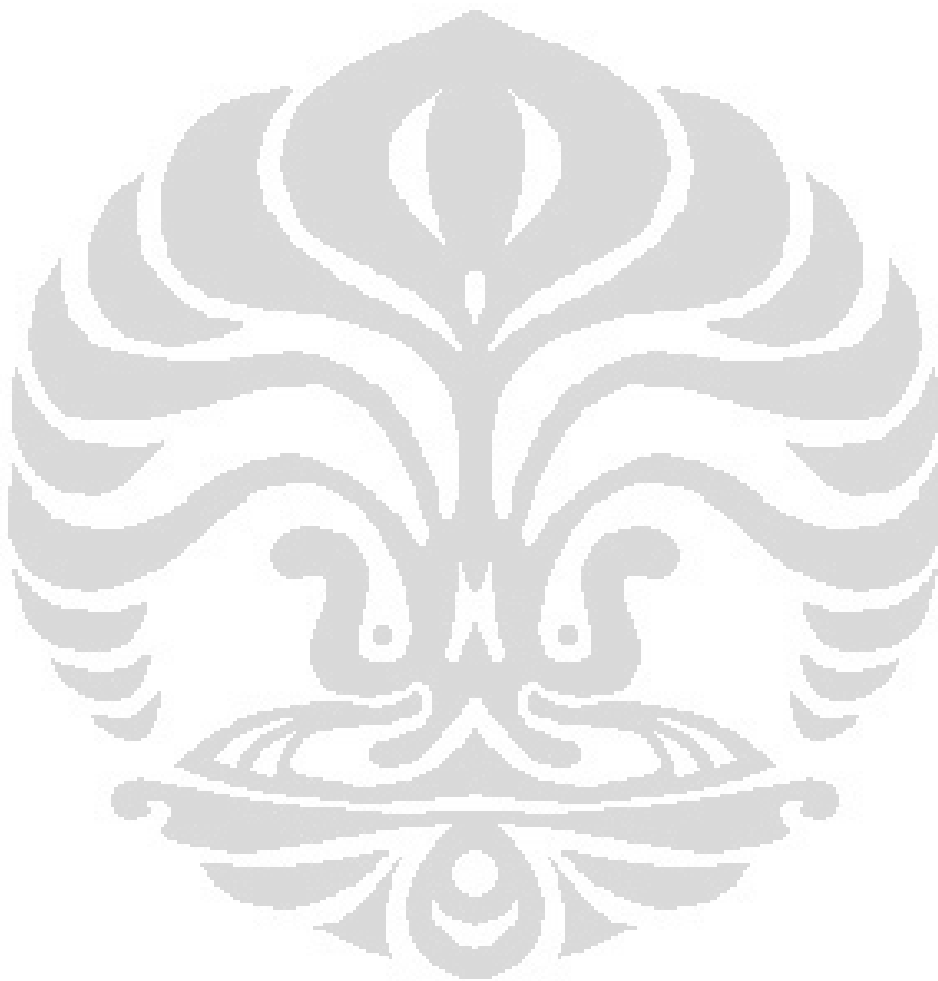
Analisis kadar glukosa pada air limbah RPH menggunakan HPLC dengan kolom SCR, fasa gerak akuabides, dan detektor *Refraction Index Detector* (RID). Air limbah RPH ditambah larutan standar glukosa dengan konsentrasi tertentu agar didapatkan hasil deteksi yang baik.

Sampel pertama ditambah dengan 20 μl larutan glukosa $1,25 \times 10^5$ ppm, sampel kedua akan dengan 50 μl larutan glukosa $1,25 \times 10^5$ ppm, dan sampel ketiga ditambah dengan 200 μl larutan glukosa $1,25 \times 10^5$ ppm. Volume akhir sampel ialah 5 ml.

Air limbah RPH perlu diberi perlakuan sebelum dapat diukur dalam HPLC, yaitu direndam dalam resin penukar kation dan penukar anion masing-masing selama 1 jam untuk menghilangkan ion-ion dalam air limbah yang dapat merusak kolom. Penyaringan dilakukan melalui kertas saring Whatman no.40 kemudian melalui *cellulose nitrate membrane* 20 μm .

3.3 Diagram Metode Penelitian

(terlampir)



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Penghitungan Jumlah Sel (TPC)

Jumlah mikroorganisme yang terdapat dalam kompartemen anoda dalam setiap pengukuran listrik harus sama. Cara mengetahui jumlah mikroorganisme yang ada ialah dengan metode TPC dan OD. Hasil dari kedua metode ini dihubungkan sehingga didapat korelasi antara jumlah sel dan kekeruhan air limbah RPH. Mikroba dalam air limbah RPH ditumbuhkan dalam media NA karena media ini umum untuk semua jenis mikroba. Metode TPC memiliki beberapa hambatan seperti memerlukan waktu inkubasi agar koloni dapat terlihat dan membutuhkan suatu seri pengenceran. Hasil perhitungan jumlah koloni yang tepat membutuhkan suatu ketelitian karena dapat terjadi sel hidup yang bertumpuk membentuk suatu koloni bersama sehingga jumlah sel yang terhitung kurang dari yang sebenarnya.

Dalam penelitian ini dilakukan empat macam pengenceran dengan masing-masing dilakukan duplo dan diamati pada 24 jam dan 48 jam. Hasilnya dapat dilihat dalam Tabel 1.

41

41

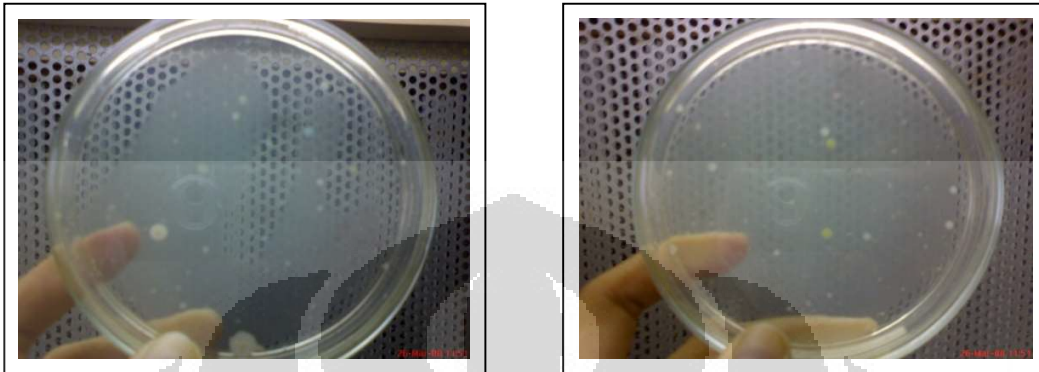
Tabel 1. Data hasil TPC

Pengenceran		24 jam	48 jam
10^{-3}	A	>300	>350
	B	>300	>350
10^{-4}	A	299	>350
	B	297	>350
10^{-5}	A	164	338
	B	170	320
10^{-6}	A	0	95
	B	0	93

Pada perhitungan jumlah sel ini tiap koloni yang tumbuh dianggap berasal dari satu sel hidup. Syarat jumlah koloni pada suatu pengenceran yang boleh dihitung ialah yang memiliki jumlah koloni antara 30 – 300 koloni dalam satu cawan petri. Dari data di atas, data yang dapat diambil ialah pada pengenceran 10^{-4} dan 10^{-5} . Jumlah koloni yang terhitung pada pengenceran duplo 10^{-5} memiliki deviasi yang lebih besar dibandingkan dengan pada pengenceran 10^{-4} . Hasil yang lebih dapat dipercaya dan dihitung ialah pada pengenceran 10^{-4} , seperti dapat dilihat pada Gambar 4.1.

Jumlah koloni mikroorganisme per mL air limbah RPH = $2,98 \times 10^6$, sehingga dalam 75 mL air limbah RPH terdapat $2,235 \times 10^8$ koloni.

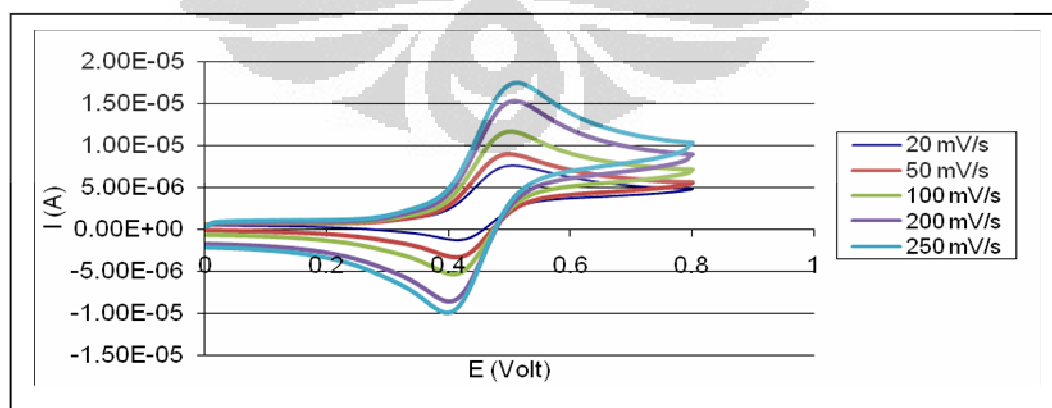
Pengukuran OD untuk tiap pengenceran TPC berguna untuk mengetahui dengan cepat jumlah sel yang terdapat dalam suatu pengenceran air limbah. Kekeruhan dan jumlah sel mikroorganisme dalam air limbah mempunyai hubungan garis lurus sehingga dengan mengukur OD air limbah dapat diketahui jumlah sel yang ada di dalamnya.



Gambar 4.1 Hasil TPC pengenceran 10^{-4} (duplo)

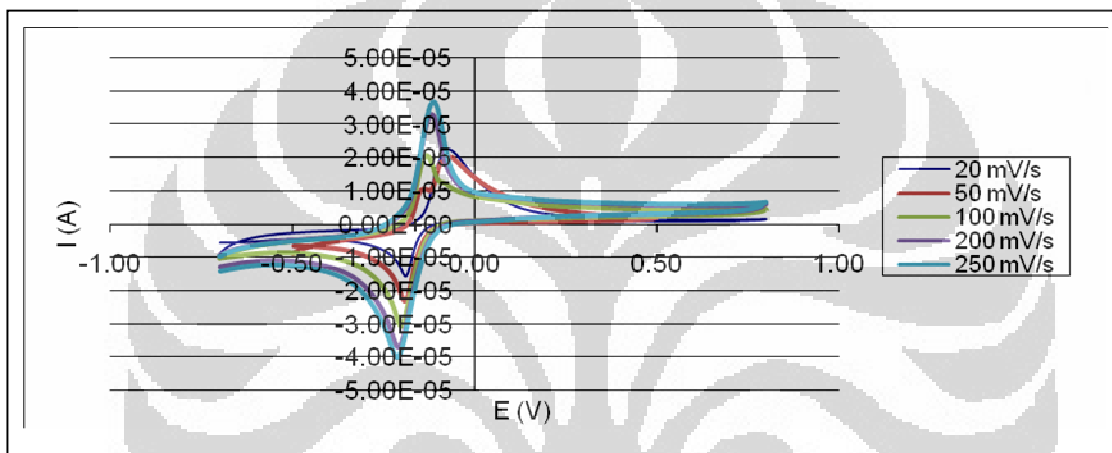
4.2 Elektrokimia Mediator

Mediator yang akan digunakan dalam MFC perlu diuji sifat elektroaktifnya menggunakan CV. Mediator yang diuji ialah MB dan FcDA dengan elektroda kerja *glassy carbon*. Voltamogram yang didapat ialah sebagai berikut :



Gambar 4.2 Voltamogram CV FcDA variasi scan rate

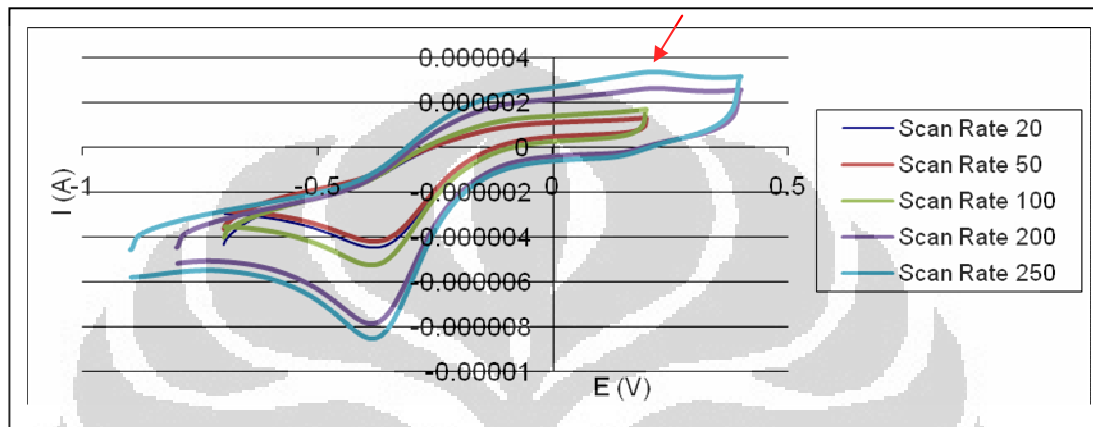
Dari gambar 4.2 di atas dapat terlihat bahwa puncak oksidasi terjadi pada potensial 0,505 V dan puncak reduksi pada 0,413 V. Posisi potensial puncak tidak berubah dengan variasi *scan rate* dan bentuk kurva yang sebanding menunjukkan bahwa FcDA bersifat elektroaktif dan reversibel.



Gambar 4.3 Voltamogram CV MB variasi scan rate

Dari gambar 4.3 di atas dapat terlihat adanya puncak oksidasi pada potensial -0.099 V dan puncak reduksi pada potensial -0.201 V. Puncak oksidasi pada *scan rate* 20 mV/s dan 50 mV/s agak bergeser ke kanan. Pergeseran ini dapat dipengaruhi oleh temperatur ruang pengukuran dan penempatan elektroda dalam sel. Namun secara keseluruhan terlihat puncak oksidasi dan reduksi yang sebanding sehingga dapat disimpulkan senyawa MB bersifat elektroaktif dan reversibel.

Di dalam air limbah RPH diduga terdapat spesi elektroaktif yang bersifat reversibel, untuk mengetahui hal itu maka dilakukan pengukuran CV terhadap air limbah menggunakan elektroda kerja *glassy carbon*.



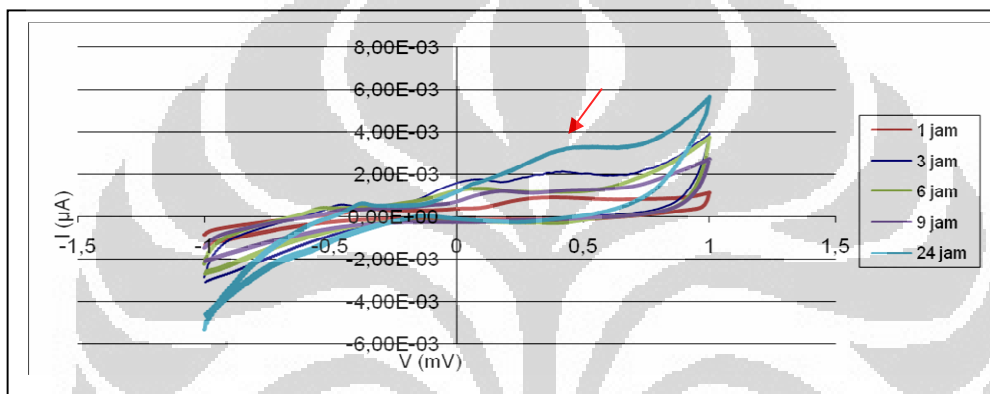
Gambar 4.4 Voltamogram CV air limbah variasi scan rate

Dari Gambar 4.4 di atas terlihat adanya puncak oksidasi yang kecil pada potensial 0,215 V dan puncak reduksi yang sangat jelas pada 0,389 V. Dari data ini terlihat luas puncak oksidasi dan reduksi yang tidak sebanding sehingga dapat disimpulkan berarti reaksi redoks yang terjadi tidak 100% reversibel. Spesi yang tereduksi lebih dominan dibanding spesi yang teroksidasi.

4.3 Elektrokimia Elektroda Arang

Mediator MB diimobilisasi pada elektroda dengan cara perendaman. Variasi waktu dilakukan untuk mengetahui waktu perendaman yang dapat

menyerap MB paling banyak dengan batas waktu maksimum 24 jam. Untuk memastikan apakah MB terdapat dalam elektroda setelah dilakukan pencucian dan sonikasi maka dilakukan pengukuran CV dengan elektroda kerja elektroda arang dan larutan akuades. Hasil CV dengan variasi waktu perendaman dapat dilihat pada gambar 4.5.



Gambar 4.5 Voltamogram MB pada elektroda arang

Dapat dilihat bahwa hasil CV dari variasi waktu perendaman 24 jam menunjukkan puncak oksidasi MB yang tertinggi dibandingkan dengan yang lain. Dari data ini dapat dipastikan bahwa MB masih terdapat dalam elektroda arang.

4.4 Uji Aktivitas Antimikroba

Mediator MB dan FcDA diuji aktivitas antimikrobanya dengan konsentrasi masing-masing 10 mM. Pada cakram MB 10 mM terlihat adanya

zona bening dengan radius 1 mm setelah 24 jam dan 2 mm setelah 48 jam. (Gambar 4.6), sedangkan pada cakram FcDA 10 mM tidak terdapat zona bening berarti senyawa FcDA tidak mengganggu pertumbuhan mikroorganisme air limbah tersebut.



Gambar 4.6 Hasil uji aktivitas antimikroba

Mediator MB yang digunakan dalam MFC diimobilisasi secara fisika pada elektroda. Diimobilisasi secara fisik berarti diharapkan senyawa MB teradsorpsi ke dalam rongga-rongga di dalam elektroda arang kayu besi namun belum tentu terikat secara kimia ke dalam strukturnya. Elektroda yang akan dipakai dalam pengukuran dibersihkan dengan dilakukan sonikasi dan dibilas dengan akuades. Setelah perlakuan ini diharapkan tidak ada lagi *leaching* MB pada saat pengukuran, sehingga tidak akan bersifat toksik terhadap mikroorganisme pada kompartemen anoda.

4.5 Desain MFC

MFC yang digunakan merupakan sistem dua kompartemen yang dipisahkan dengan PEM seperti penelitian terdahulu^{16,17}, seperti dapat dilihat pada Gambar 4.7.

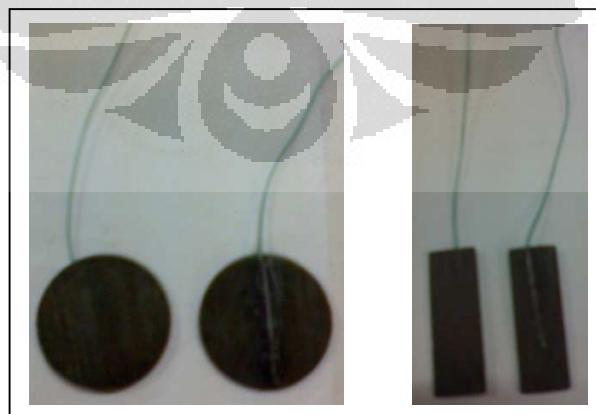
Elektroda yang digunakan pada anoda dan katoda ialah elektroda arang kayu besi dengan dua tipe, yang pertama berbentuk lingkaran dengan ukuran diameter 3 cm dan tebal 2 mm dengan luas permukaan $16,022 \text{ cm}^2$, yang kedua berbentuk persegi panjang dengan ukuran $3 \times 1 \times 0,02 \text{ cm}$ dengan luas permukaan $7,6 \text{ cm}^2$. Digunakan dua tipe elektroda untuk membedakan pemakaian elektroda yang menggunakan mediator dan yang tidak menggunakan mediator. Elektroda berbentuk lingkaran digunakan untuk pengukuran listrik tanpa penambahan mediator, sedangkan elektroda berbentuk persegi panjang digunakan untuk pengukuran listrik dengan mediator MB.

Kawat Ni-Cr ditempelkan ke permukaan elektroda menggunakan lem silikon. Hal yang perlu diperhatikan ialah kawat harus menempel langsung pada permukaan elektroda jika tidak elektron akan sulit mengalir dan akan timbul hambatan dalam yang besar. Kawat juga tidak boleh bersentuhan dengan cairan dalam kompartemen anoda dan katoda.



Gambar 4.7 Desain MFC yang digunakan

Setelah elektroda ditempel dengan kawat Ni-Cr kemudian diukur hambatannya, elektroda berbentuk lingkaran tanpa mediator memiliki hambatan sebesar $2,6 \Omega$, elektroda berbentuk persegi panjang tanpa mediator memiliki hambatan sebesar 2Ω , sedangkan yang telah direndam dalam mediator memiliki hambatan sebesar $1,6 \Omega$. Gambar kedua elektroda dapat dilihat pada Gambar 4.8.



Gambar 4.8 Elektroda arang kayu besi

PEM yang digunakan merupakan membran komersil dengan nama dagang Nafion[®] 112 . Membran ini memiliki kemampuan untuk menghantarkan proton yang dihasilkan dari proses oksidasi pada kompartemen anoda menuju katoda. Terdapat dua PEM yang digunakan berulang-ulang setelah terlebih dahulu diregenerasi menggunakan berturut-turut larutan H₂O₂, H₂SO₄, akuabides, dan NaCl. Larutan H₂O₂ berfungsi untuk membersihkan sisa-sisa zat organik yang teradsorpsi pada permukaan PEM dengan cara mengoksidasinya. PEM diubah ke bentuk asamnya dengan larutan H₂SO₄. Larutan NaCl berfungsi untuk mengubah PEM ke bentuk garamnya, proses ini merupakan proses aktivasi PEM secara kimia. Selama pemakaian warna PEM tetap bening yang menunjukkan bahwa kualitas PEM tetap terjaga karena tidak tersumbat oleh mediator yang berwarna seperti MB bila ditambahkan dalam kompartemen anoda.

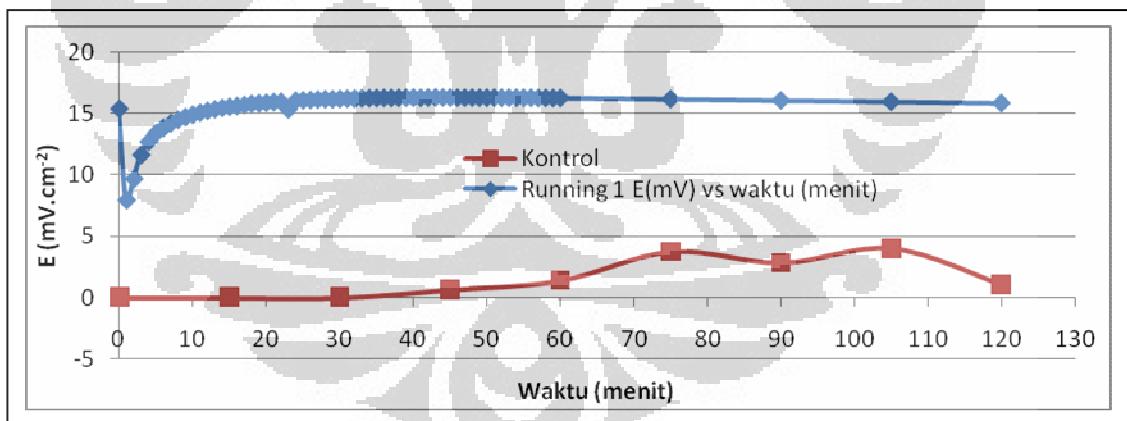
Kompartemen anoda terdiri dari 75 mL air limbah RPH dan 75 mL buffer fosfat 100 mM pH 7,0 steril dan diaduk dengan pengaduk magnet selama pengukuran. Kondisi pada kompartemen anoda tidak dibuat anaerob karena dalam air limbah RPH terdapat berbagai macam mikroorganisme yang dapat bekerja sinergis. Bila dijaga anaerob maka mikroorganisme aerob yang ada di dalamnya akan mati.

Kompartemen katoda terdiri dari 75 mL larutan K₃Fe(CN)₆ 100 mM dan 75 mL larutan buffer fosfat 100 mM pH 7,0 steril dan diaerasi dengan

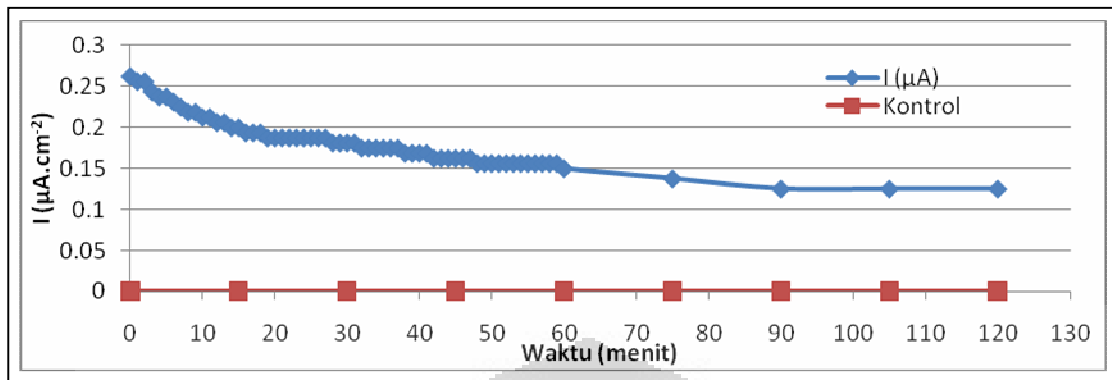
oksigen selama pengukuran. Aerasi ini sangat penting karena oksigen sangat dibutuhkan untuk menjaga siklus $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ dapat terus berjalan. Larutan $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ digunakan sebagai akseptor elektron dengan nilai potensial reduksi sebesar +0,36 V.

4.6 Pengukuran MFC tanpa Penambahan Mediator

Produksi arus dan tegangan yang dihasilkan diukur menggunakan digital multimeter dengan selang waktu pengukuran 1 menit selama 1 jam pertama kemudian tiap 15 menit untuk 1 jam berikutnya. Dalam satu kali pengukuran hanya dicatat data arus atau tegangan saja.



Gambar 4.9 Pengukuran densitas tegangan tanpa penambahan mediator



Gambar 4.10 Pengukuran densitas arus tanpa penambahan mediator

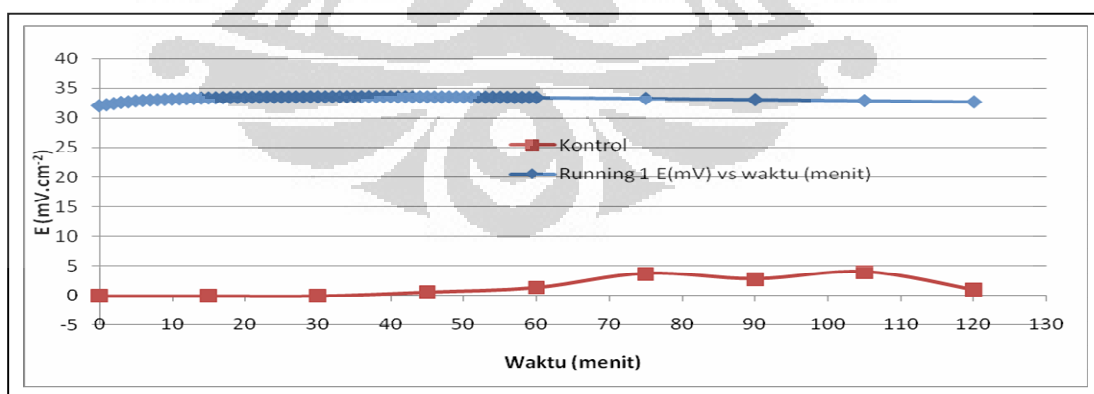
Dari Gambar 4.9 dan 4.10 dapat terlihat bahwa air limbah tanpa penambahan mediator dapat menghasilkan arus dan tegangan dengan densitas arus maksimum sebesar $0,262 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ dan densitas tegangan maksimum sebesar $16,303 \text{ mV}\cdot\text{cm}^{-2}$. Hasil ini sesuai dengan hipotesa bahwa tanpa penambahan mediator dari luar pun dapat dihasilkan arus dan tegangan listrik, berarti di dalam air limbah RPH terdapat senyawa yang berperan sebagai mediator elektron. Senyawa tersebut diperkirakan dihasilkan oleh mikroorganisme dalam air limbah seperti senyawa pyosianin yang dapat berperan sebagai mediator yang dihasilkan oleh *Pseudomonas aeruginosa*^{16,17}.

Setelah dua jam pengukuran terlihat adanya penurunan arus yang dihasilkan sedangkan voltase yang terbaca cukup stabil. Penurunan arus ini dapat disebabkan oleh terjadinya polarisasi pada elektroda. Polarisasi terjadi saat arus mencapai nilai maksimum dan ditandai dengan timbulnya gelembung hidrogen pada permukaan elektroda. Gelembung hidrogen ini

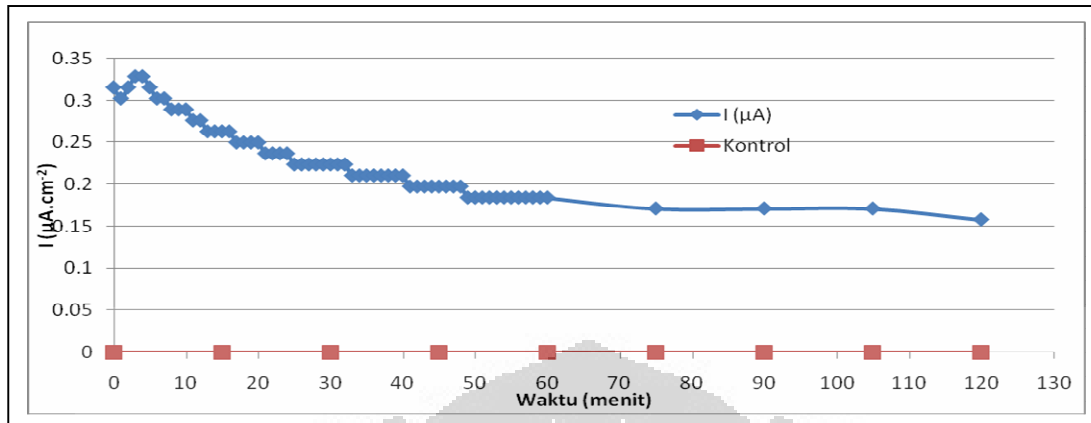
menutupi hampir seluruh permukaan elektroda sehingga meningkatkan hambatan dalam dan menurunkan arus dan tegangan yang dihasilkan. Selain itu, factor lain yang diduga turut berperan dalam meningkatkan hambatan dalam ialah terbentuknya produk samping hasil metabolisme mikroorganisme yang melapisi permukaan elektroda atau PEM sehingga menghambat proses transfer elektron atau proton.

4.7 Pengukuran MFC dengan Mediator MB

Pengukuran arus dan tegangan dengan mediator MB yang diimobilisasi dalam elektroda sama seperti tanpa penambahan mediator, perbedaannya hanya pada elektroda yang digunakan. Mediator MB 100 mM diimobilisasi secara fisika dengan cara merendamkan elektroda persegi panjang selama 24 jam. Pencatatan dilakukan sama seperti sebelumnya.



Gambar 4.11 Pengukuran densitas tegangan dengan mediator MB

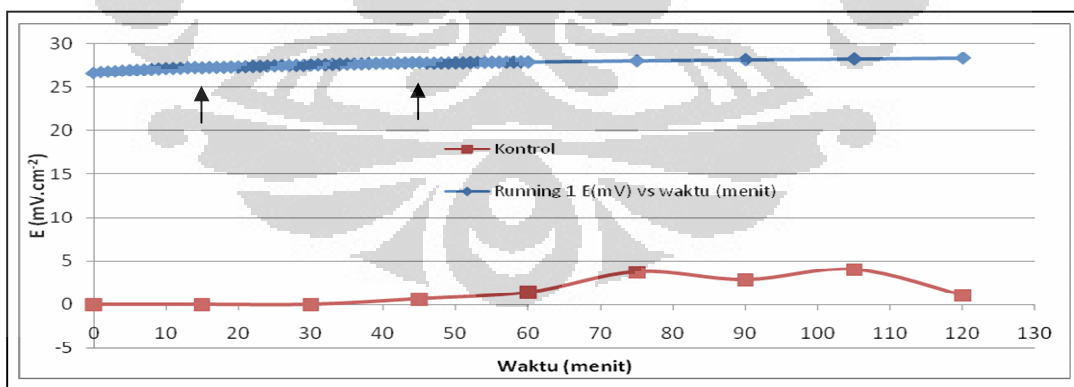


Gambar 4.12 Pengukuran densitas arus dengan mediator MB

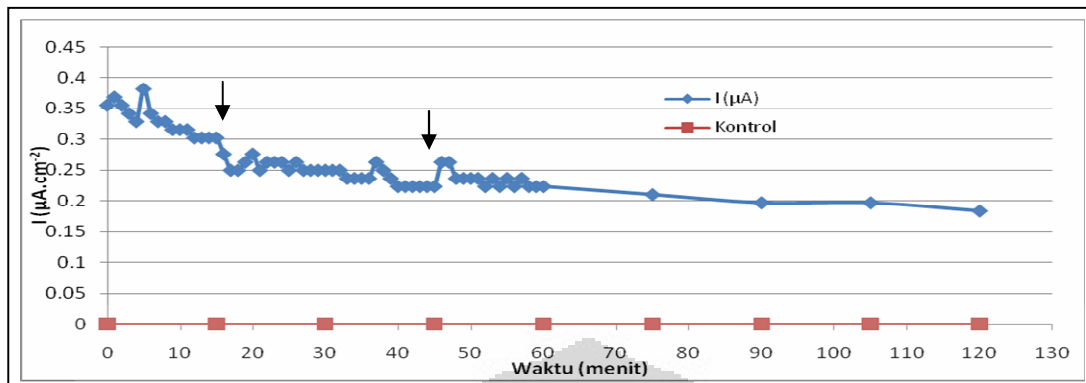
Dari Gambar 4.11 dan 4.12 terlihat bahwa dengan menggunakan elektroda yang telah diimmobilisasi dengan mediator MB dapat meningkatkan arus dan tegangan yang dihasilkan. Dengan menggunakan mediator MB dicatat densitas arus maksimum yang dihasilkan sebesar $0,329 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ dan densitas tegangan maksimum yang dihasilkan sebesar $33,526 \text{mV}\cdot\text{cm}^{-2}$. Berarti terjadi peningkatan densitas arus sebesar $0,067 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ dan peningkatan densitas tegangan sebesar $17,224 \text{mV}\cdot\text{cm}^{-2}$. Hal ini sesuai dengan hipotesis bahwa adanya mediator MB akan membantu menghantarkan elektron dari dalam sel mikroorganisme menuju anoda. Peningkatan ini memang belum cukup signifikan namun keuntungan dari sistem ini ialah tidak digunakan mediator dalam bentuk larutan yang dimasukkan ke dalam kompartemen anoda karena hal ini akan dapat mengurangi efisiensi PEM.

4.8 Pengukuran MFC dengan Mediator MB dan *Feeding* Glukosa

Dalam penelitian ini ingin diketahui juga pengaruh penambahan glukosa pada sistem MFC menggunakan elektroda yang diimobilisasi dengan MB. Penambahan glukosa 1,1 M sebanyak 5 mL ke dalam kompartemen anoda dilakukan dua kali pada menit ke-15 dan menit ke-45. Diharapkan adanya peningkatan arus dan voltase dengan penambahan glukosa karena mikroorganisme mendapat tambahan masukkan bahan bakar sehingga dapat digunakan untuk menghasilkan elektron. Hasil pengukuran yang dicatat ialah densitas arus maksimum yang dihasilkan sebesar $0,382 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ dan densitas tegangan maksimum yang dihasilkan sebesar $28,342 \text{mV}\cdot\text{cm}^{-2}$, seperti dapat dilihat pada Gambar 4.13 dan 4.14



Gambar 4.13 Pengukuran densitas tegangan dengan mediator MB dan *feeding* glukosa



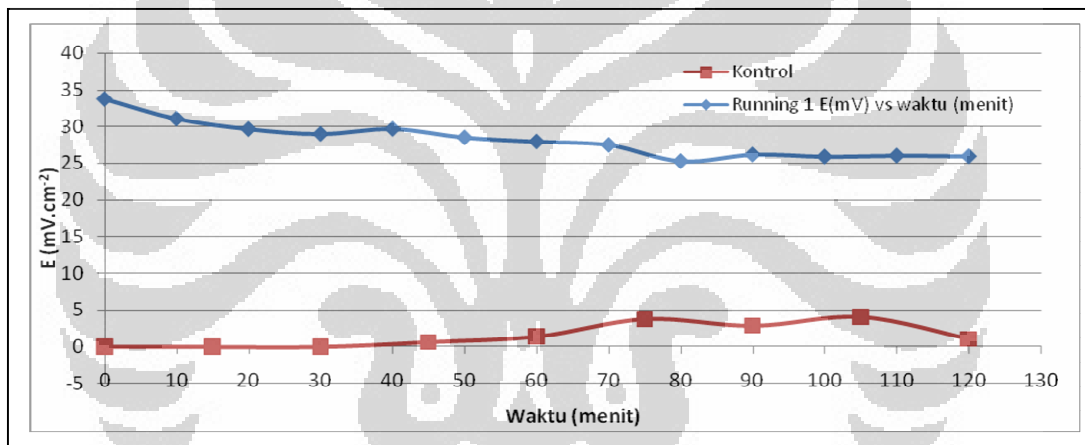
Gambar 4.14 Pengukuran densitas arus dengan mediator MB dan *feeding* glukosa

Dari gambar di atas dapat diamati bahwa tidak ada peningkatan tegangan dan arus pada menit ke-15 dan ke-45 ketika ditambahkan 5 mL glukosa 1,1 M pada air limbah maupun kontrol. Hal ini berarti glukosa yang ditambahkan tidak dikonsumsi oleh mikroorganisme yang ada dalam air limbah dan penambahan glukosa tidak berpengaruh pada arus yang dihasilkan. Mikroorganisme tidak mengonsumsi glukosa lagi karena kadar glukosa dalam air limbah tersebut telah berlebih. Jika dibuat kurva pertumbuhannya, mikroorganisme telah berada pada fasa stasioner sehingga penambahan glukosa tidak lagi memberikan pengaruh.

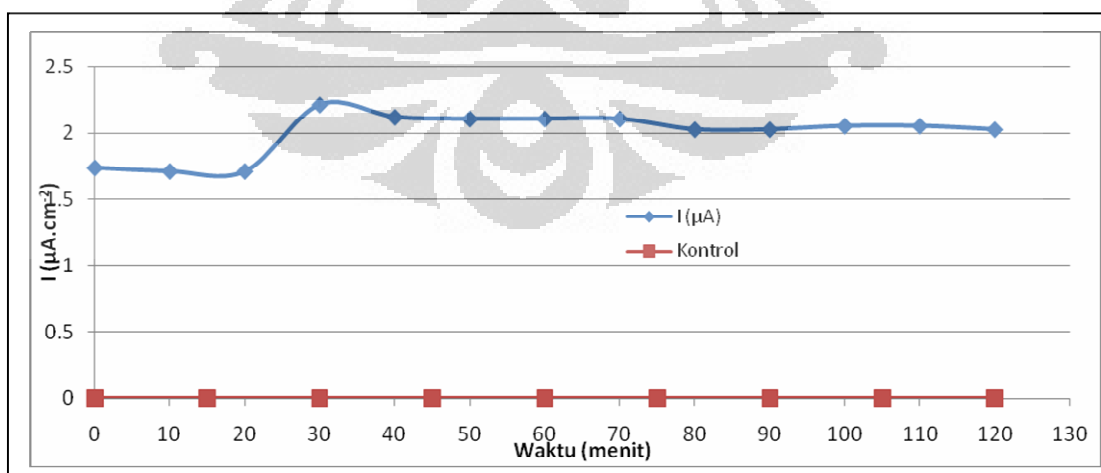
4.9 Pengukuran MFC dengan Mediator FcDA

Penggunaan mediator FcDA meningkatkan densitas tegangan sebanyak dua kali lipat dan densitas arus sebanyak dua puluh kali lipat. Densitas arus maksimum yang dicatat ialah $2,211 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ dan densitas

tegangan maksimum yang dicatat ialah $33,75 \text{ mV.cm}^{-2}$. Peningkatan densitas arus yang terjadi sebesar $1,948 \text{ }\mu\text{A.cm}^{-2}$ dan peningkatan densitas tegangan yang terjadi sebesar $17,447 \text{ mV.cm}^{-2}$. Peningkatan yang terjadi sangat signifikan, hal ini disebabkan karena mediator FcDA digunakan dalam bentuk larutannya sehingga dapat berinteraksi dengan lebih banyak sel mikroorganismen dan mengantarkan lebih banyak elektron menuju anoda. Dapat dilihat pada Gambar 4.15 dan 4.16 .



Gambar 4.15 Pengukuran densitas tegangan dengan mediator FcDA



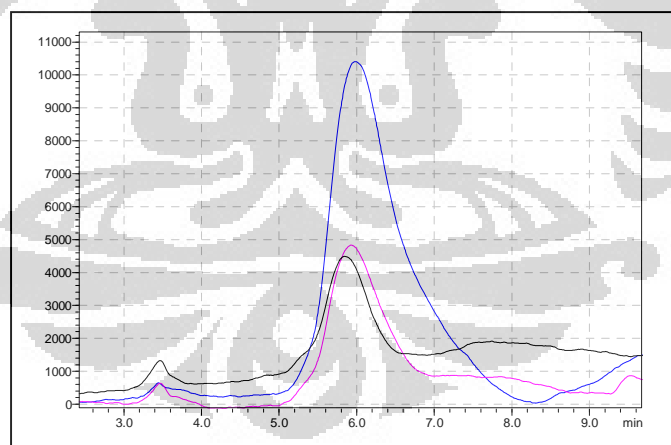
Gambar 4.16 Pengukuran densitas arus dengan mediator FcDA

4.10 Pengukuran Kadar Protein

Kadar protein dalam air limbah diukur dengan menggunakan metode Lowry dengan alat ukur spektrofotometer dengan panjang gelombang yang spesifik untuk protein yaitu 700 nm. Larutan protein standar yang digunakan ialah *Bovine Serum Albumin* (BSA). Kadar protein ini perlu ditentukan untuk mengetahui berat protein sel yang ada dalam air limbah. Cara menghitungnya ialah dengan mengurangi berat protein total dengan berat protein dalam air limbah saja. Protein total dalam air limbah yang dimaksudkan di sini termasuk protein yang berasal dari seluruh sel mikroorganisme dan yang terdapat dalam air limbah. Protein di dalam sel mikroorganisme dapat berasal dari membran sel, ribosom, sitoplasma, dinding sel, pili, dan flagela. Sel mikroorganisme dapat larut jika ditambahkan larutan NaOH 3 N dan dipanaskan selama 5 menit pada temperatur 100°C karena basa dan panas dapat merusak struktur *fosfolipid bilayer*. Perlakuan ini dilakukan ketika mengukur protein total sedangkan untuk mengukur protein dalam air limbah tidak perlu dilakukan. Dalam pengukuran kadar protein metode Lowry ini deret standar BSA telah ditetapkan yaitu antara 6,67 ppm sampai 33,33 ppm. Kadar protein total dalam air limbah ialah 13,304 ppm, yaitu $1,33 \times 10^{-5}$ gram per mL air limbah.

4.11 Pengukuran Kadar Glukosa

Kadar glukosa dalam air limbah ditentukan dengan alat ukur *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) menggunakan kolom SCR, fasa gerak akuabides, dan detector RID. Pengukuran kadar glukosa dalam air limbah dibantu dengan penambahan larutan standar glukosa $1,25 \times 10^5$ ppm ke dalam 5 mL air limbah. *Spike* yang ditambahkan memiliki volume 20 μL , 50 μL , dan 200 μL . Penambahan dilakukan dengan volume yang sangat kecil agar sampel tidak terpengaruh penambahan standar dalam. Hasilnya dapat dilihat pada Gambar 4.17.



Gambar 4.17 Perbandingan spike glukosa 20, 50, dan 200 μL

Didapatkan kadar glukosa dalam air limbah sebesar 502,512 ppm.

Nilai yang didapat ini cukup besar dan diperkirakan berasal dari hasil

pemecahan polimer karbohidrat lainnya yang berasal dari air limbah RPH oleh mikroorganisme yang ada di dalamnya.

4.12 Efisiensi Sistem MFC

Besarnya arus listrik yang dapat dihasilkan dalam suatu sistem MFC dapat dihitung secara teoritis² menggunakan persamaan $I = kcnF$, dengan I adalah produksi arus listrik (A), k adalah laju reduksi mediator MB ($4,16 \times 10^{-6} \text{ mol}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$), c adalah berat ekivalen protein sel (g), n adalah jumlah elektron yang ditransfer per molekul mediator ($n=2$), dan F adalah bilangan faraday ($96500 \text{ C} \cdot \text{mol}^{-1}$).

Didapatkan persamaan :

$$I = 4,16 \times 10^{-6} \times c \times 2 \times 96500$$

Maka dengan $c = 1,33 \times 10^{-5} \text{ g}$, dapat dihasilkan arus sebesar $10,678 \mu\text{A}$. Dengan luas permukaan elektroda $7,60 \text{ cm}^2$, densitas arus teoritis yang dihasilkan ialah $1,405 \mu\text{A} \cdot \text{cm}^2$. Namun kenyataannya densitas arus maksimum yang diperoleh dengan penambahan mediator sebesar $0,329 \mu\text{A} \cdot \text{cm}^2$. Efisiensi dari sistem ini sebesar $23,41\%$. Persamaan di atas dapat digunakan untuk menghitung berat ekivalen protein sel dengan mengetahui arus yang dihasilkan. Jika dihitung dari arus listrik yang dihasilkan, berat ekivalen protein sel yang ada di dalam sistem seharusnya sebesar $3,11 \text{ gram}$.

Efisiensi dari sistem MFC dapat ditingkatkan dengan memilih mediator yang digunakan karena akan berpengaruh pada banyaknya elektron yang terlibat per molekul senyawa mediator dan tetapan laju reduksi senyawa mediator, serta memperbanyak berat ekivalen protein sel yang digunakan dalam sistem MFC. Beberapa faktor yang menyebabkan penurunan tegangan dalam sistem MFC ialah adanya *overpotensial* dan *ohmic losses*¹⁴. *Overpotensial* ialah perbedaan tegangan yang diukur antara sirkuit tertutup dimana dihasilkan arus (E_{cell}) dengan sirkuit terbuka dimana tidak ada arus listrik (E_{emf}). Persamaannya ialah :

$$E_{cell} = E_{emf} - (\Sigma\eta_a + |\Sigma\eta_c| + IR_{\Omega})$$

$\Sigma\eta_a$ dan $\Sigma\eta_c$ merupakan *overpotensial* pada anoda dan katoda. IR_{Ω} merupakan total *ohmic losses* (yang merupakan hasil perkalian antara arus listrik dan hambatan ohm dalam sistem). *Ohmic losses* dalam sistem MFC merupakan total hambatan aliran elektron melalui elektroda dan pada sambungan, serta hambatan aliran ion-ion melalui PEM dan elektrolit pada anoda dan katoda. Nilai ini dapat dikurangi dengan memperdekat jarak antar elektroda, menggunakan membran dengan tahanan rendah, dan meningkatkan konduktivitas larutan.

Overpotensial pada elektroda dapat terbagi menjadi tiga yaitu : (i) *activation losses*, (ii) *bacterial metabolic losses*, dan (iii) *concentration losses*¹⁴. *Activation losses* merupakan hilangnya energi sebagai energi aktivasi yang dibutuhkan dalam reaksi redoks. Hal ini terjadi saat elektron

ditransfer dari dan menuju senyawa yang bereaksi pada permukaan elektroda. Senyawa ini dapat berupa mediator pada anoda dan akseptor elektron terakhir pada katoda. Cara mengurangi *activation losses* ini ialah dengan memperbesar luas permukaan elektroda, meningkatkan temperatur operasi, dan membuat adanya *biofilm* pada elektroda. *Bacterial metabolic losses* terjadi karena besarnya perbedaan antara tegangan redoks yang dimiliki substrat dan tegangan pada anoda sehingga lebih banyak energi yang dipakai oleh bakteri daripada digunakan dalam sistem MFC. Cara pencegahannya ialah dengan mengatur tegangan yang paling kecil (paling negatif) pada anoda. *Concentration losses* terjadi saat kecepatan transportasi massa dari dan menuju elektroda menghambat produksi arus listrik, biasanya ini terjadi pada densitas arus yang tinggi. Peningkatan rasio antara spesi teroksidasi dan tereduksi pada anoda akan meningkatkan tegangan, sedangkan penurunan rasio spesi teroksidasi dan tereduksi pada katoda akan menurunkan tegangan¹⁴.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa kultur mikroorganisme campuran dalam air limbah RPH dapat dimanfaatkan untuk menghasilkan tegangan dan arus listrik tanpa penambahan senyawa mediator dari luar. Besar densitas arus listrik maksimum yang dihasilkan $0,262 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ dan densitas tegangan maksimum $16,303 \text{ mV}\cdot\text{cm}^{-2}$. Hal ini menunjukkan bahwa di dalam air limbah RPH tersebut terdapat senyawa mediator. Penambahan mediator *methylene blue* (MB) dan *ferrocene dicarboxylic acid* (FcDA) dari luar meningkatkan tegangan dan arus listrik yang dihasilkan. Peningkatan arus listrik dan tegangan menggunakan mediator FcDA lebih besar daripada menggunakan mediator MB yang diimobilisasi pada elektroda. Penggunaan mediator MB yang diimobilisasi pada elektroda menghasilkan densitas arus listrik maksimum $0,329 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ dan densitas tegangan maksimum $33,526 \text{ mV}\cdot\text{cm}^{-2}$. Penggunaan mediator FcDA dalam bentuk larutan menghasilkan densitas arus maksimum $2,211 \mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$ dan densitas tegangan maksimum $33,75 \text{ mV}\cdot\text{cm}^{-2}$.

Tabel 10. Perbandingan hasil

	Tanpa Med.	+ Med. MB	+ Med. FcDA
Densitas arus ($\mu\text{A}\cdot\text{cm}^{-2}$)	0,262	0,329	2,211
Densitas tegangan ($\text{mV}\cdot\text{cm}^{-2}$)	16,303	33,526	33,75

5.2 Saran

Penelitian selanjutnya disarankan untuk menambahkan mikroorganisme unggul yang dapat menghasilkan senyawa mediator ke dalam substrat air limbah RPH dan menggunakan elektroda karbon komersial agar dapat menghasilkan energi listrik lebih tinggi. Perlu dicari nilai perbandingan antara karbon dan nitrogen (C/N) dalam air limbah yang optimum bagi pertumbuhan mikroorganisme. Kondisi optimum untuk pertumbuhan mikroorganisme pada kompartemen anoda seperti keadaan aerob atau anaerob perlu diteliti lebih lanjut. Disarankan untuk mencari desain MFC lain yang dapat meningkatkan energi listrik dan lebih mudah diaplikasikan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Carrette, L., Friedrich, K.A., Stimming, U. 2001. Fuel Cells-Fundamentals and Applications. *Fuel Cells*. **1**(1) : 1-35
2. Justin, Gusphyl A. 2004. *Biofuel Cells as a Possible Power Source for Implantable Electronic Devices*. University of Pittsburgh
3. Schroeder, Uwe. 2007. Anodic electron transfer mechanisms in microbial fuel cells and their energy efficiency. *Physical Chemistry Chemical Physics*. **9** : 2619-1692.
4. Grainick, Jeffrey A., Newman, Dianne K. 2007. Extracellular respiration. *Molecular Microbiology*. **65**(1) : 1-11
5. Mohan, S. Venkata., Raghavulu, S. Veer., Srikanth, S., Sarma, P.N. 2007. Bioelectricity production by mediatorless microbial fuel cell under acidophilic condition using wastewater as substrate : Influence of substrate loading rate. *Current Science*. **92**(12) : 1720 – 1726
6. Liu, Hong., Ramnarayanan, Ramanathan., Logan, Bruce E. 2004. Production of Electricity during Wastewater Treatment Using a Single Chamber Microbial Fuel Cell. *Environmental Science Technology*. **38** : 2281-2285
7. Min, Booki., Kim, JungRae, Oh, SangEun., Regan, John M., Logan, Bruce. E. 2005. Electricity Generation from Swine Wastewater using Microbial Fuel Cells. *Water Research*. **39** : 4961-4968

8. Rabaey, Korneel., Verstraete, Willy. 2005. Microbial Fuel Cells: Novel Biotechnology for Energy Generation. *TRENDS in Biotechnology*. **23**(6) : 291-298
9. Lovley, Derek E. 2006. Microbial Fuel Cells: Novel Microbial Physiologies and Engineering Approaches. *Current Opinion in Biotechnology*. **17** : 327-332
10. Chaudhuri, Swades K., Lovley, Derek E. 2003. Electricity Generation by Direct Oxidation of Glucose in Mediatorless Microbial Fuel Cells. *Nature Biotechnology*. **21**(10) : 1229-1232
11. Logan, Bruce E. 2004. Extracting Hydrogen and Electricity from Renewable Resources. *Environmental Science & Technology*. 161A-167A
12. Du, Zhuwei., Li, Haoran., Gu, Tingyue. 2007. A state of the art review on microbial fuel cells : A promising technology for wastewater treatment and bioenergy. *Biotechnology Advanced*. **25** : 464-482
13. Katz, Eugenii., Shipway, Andre N., Willner, Itamar. 2003. *Handbook of Fuel Cells – Fundamentals, Technology and Applications. Volume 1 : Fundamentals and Survey of Systems*. John Wiley & Sons, Ltd.
14. Logan, Bruce E., Hamelers, Bert., Rozendal, Rene., Schroeder, Uwe., Keller, Jurg., Freguia, Stefano., Aelterman, Peter., Verstraete, Willy., Rabaey, Korneel. 2006. Microbial Fuel Cells: Methodology and Technology. *Environmental Science & Technology*. **40**(17) : 5181-5192

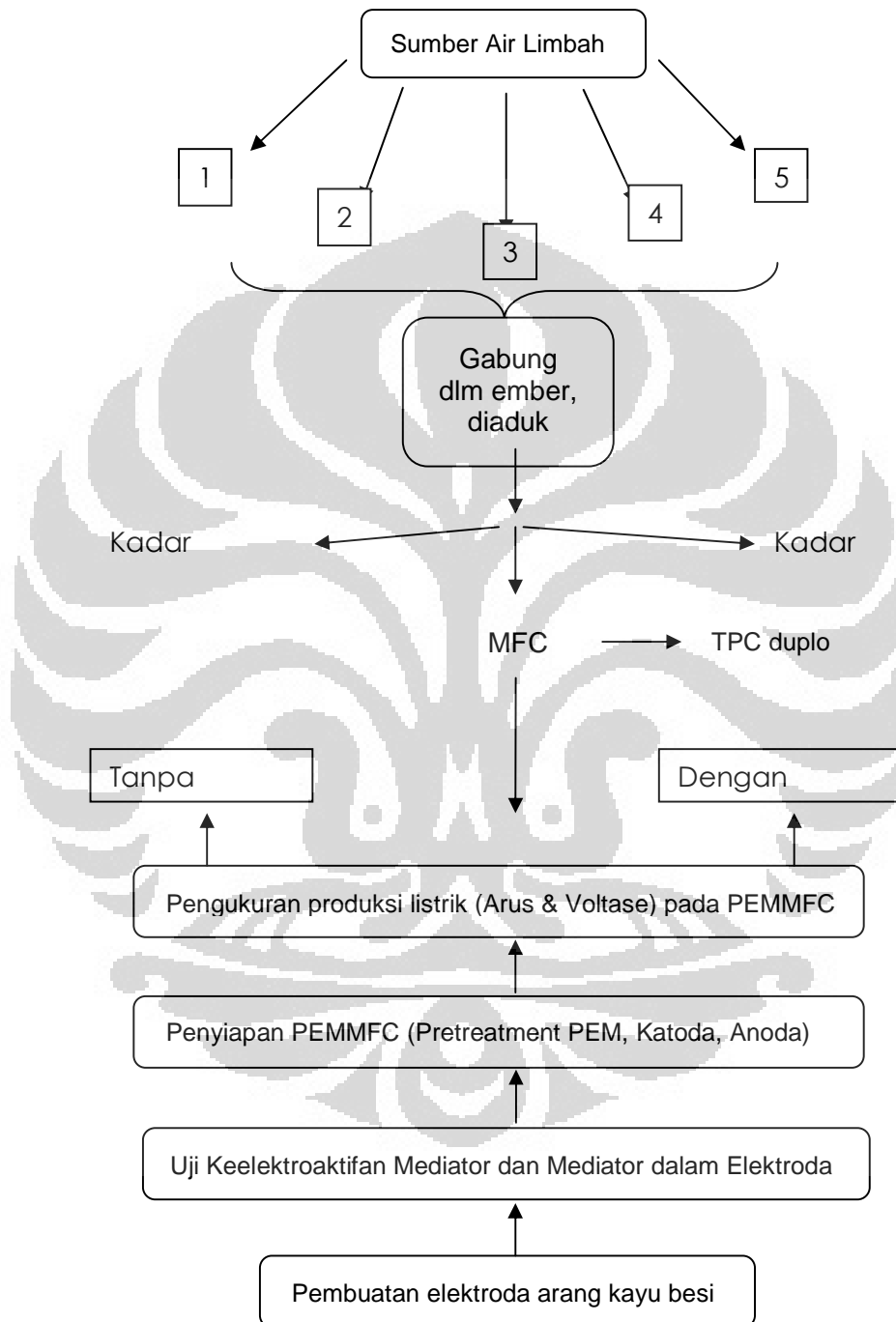
15. Shukla, A.K., Suresh, P., Berchmans, S., Rajendran, A. 2004. Biological Fuel Cells and their applications. *Current Science*. **87**(4) : 455- 468
16. Kurniawati, Tri. 2007. Studi Awal Produksi Listrik dengan *Proton Exchange Membran Microbial Fuel Cell* (PEMMFC) Menggunakan Kultur Campuran *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 dan *Escherichia coli* ATCC 8739. Karya Utama Sarjana Kimia FMIPA UI Depok.
17. Suhanda, Fitra. 2007. Produksi Listrik dengan Microbial Fuel Cell Menggunakan Kultur *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 pada Media Suspensi Estrak Tauge. Karya Utama Sarjana Kimia FMIPA UI Depok.
18. Chaudhuri, Swades K., Lovley, Derek R. 2003. Electricity generation by direct oxidation of glucose in mediatorless microbial fuel cells. *Nature Biotechnology*. **21**(10) : 1229 – 1232
19. Jong, Bor Chyan., Kim, Byung Hong., Chang, In Seop., Liew, Pauline Woan Ying., Choo, Yeng Fung, Kang, Gi Su. 2006. Enrichment, Performance, and Microbial Diversity of a Thermophilic Mediatorless Microbial Fuel Cell. *Environmental Science & Technology*. **40** : 6449-6454
20. Budiarto, Andri. 2006. *Microbial Fuel Cell* dengan Mediator Ter-immobilisasi Menggunakan Kultur *Escherichia coli* UICC B-15. Karya Utama Sarjana Kimia FMIPA UI Depok.
21. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532002000500015&lng=&nrm=iso&tlng=
Journal of the Brazilian Chemical Society. 13 Juni 2008. 10.51 WIB

22. Muslimin, Lucia W. 1995. *Mikrobiologi Lingkungan*. Universitas Hasanuddin Proyek Pengembangan Pusat Studi Lingkungan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan dan Kebudayaan
23. Alaerts, G., Santika, Sri Sumestri. 1987. *Metoda Penelitian Air*. Surabaya : Usaha Nasional
24. Setiasih, S., et. al. 1998. *Penuntun Praktikum Mikrobiologi*. Departemen Kimia FMIPA UI Depok.
25. Sumo, U., et. al. 2004. *Penuntun Praktikum Biokimia*. Departemen Kimia FMIPA UI Depok.
26. www.library4science.com. RPW. Scott. Liquid Chromatography. 13 Juni 2008. 09.00 WIB
27. Logan, Bruce E., Regan, John M. 2006. Microbial Challenges and Fuel Cells Applications. *Environmental Science & Technology*. 5172-5180



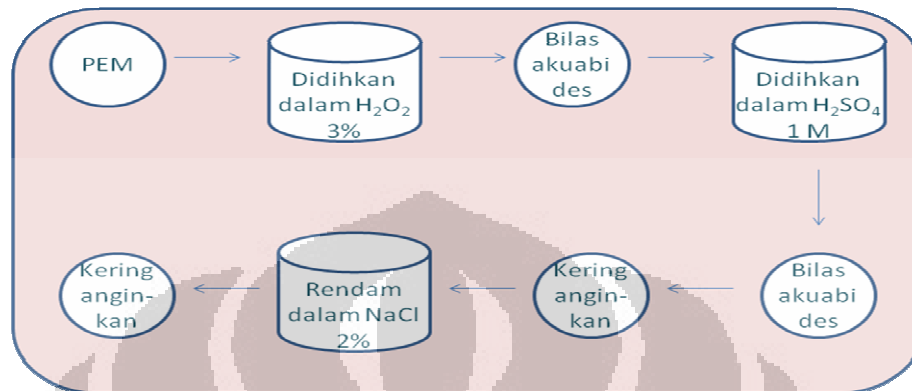
Lampiran 1

Metode Penelitian

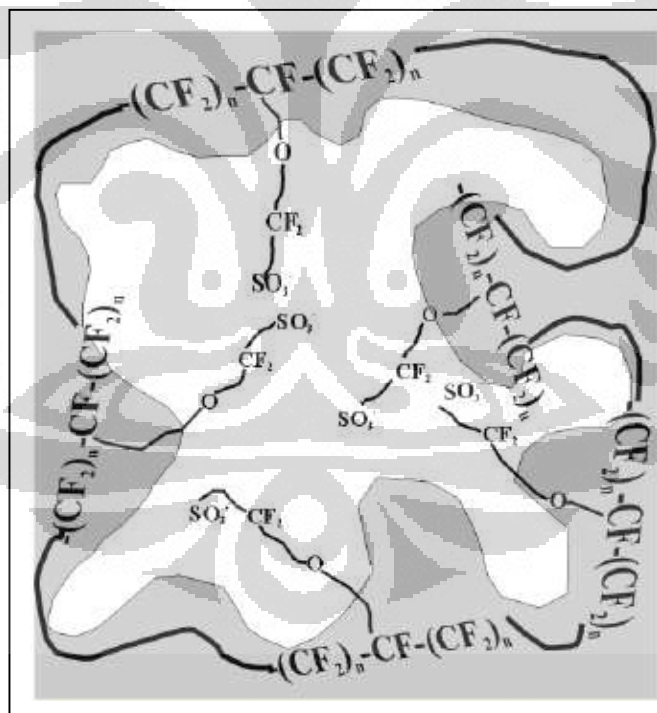


Lampiran 2

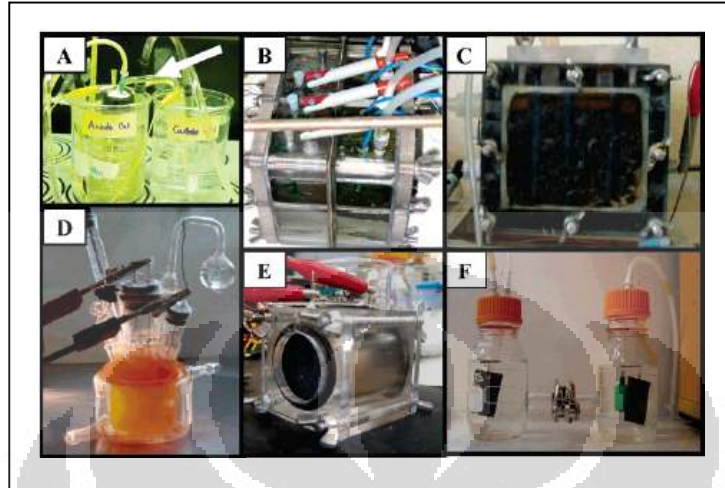
Pre-Treatment PEM



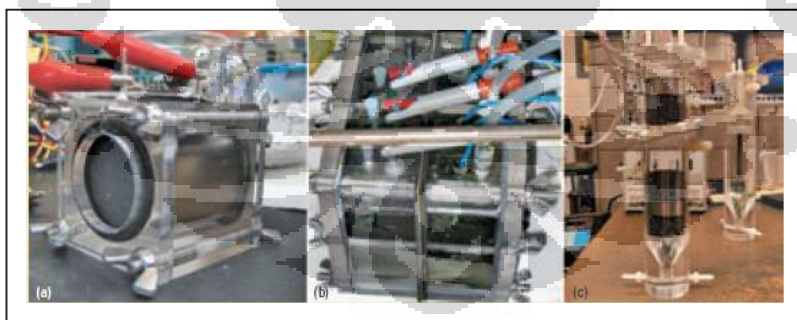
Lampiran 3



Gambar 1. Struktur PTFE Nafion®

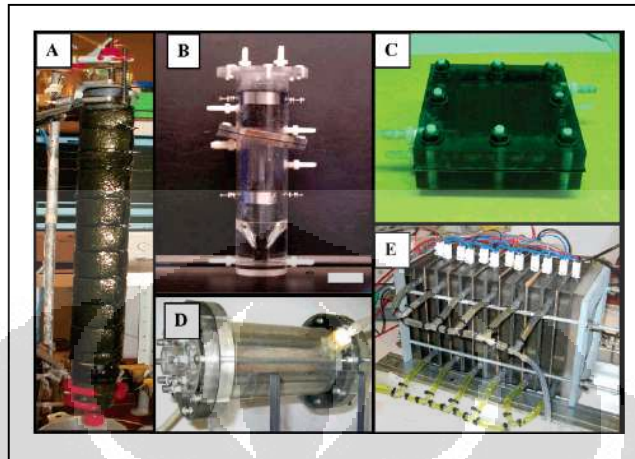
Lampiran 4

Gambar 2. A. MFC sederhana dengan jembatan garam, B. MFC empat kompartemen yang dipisahkan oleh membran, C. sama seperti B namun sistem berkelanjutan, D. MFC tipe fotoheterotropik, E. MFC satu kompartemen dengan katoda bentuk tabung, F. Sistem tipe H dua kompartemen¹⁴

Lampiran 5

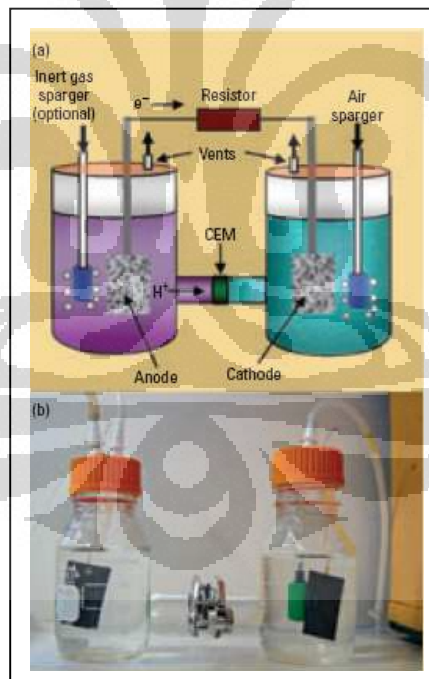
Gambar 3. (a) PEMMFC satu kompartemen, (b) Packed-bed MFC, (c) Upflow packed-bed MFC²⁷

Lampiran 6

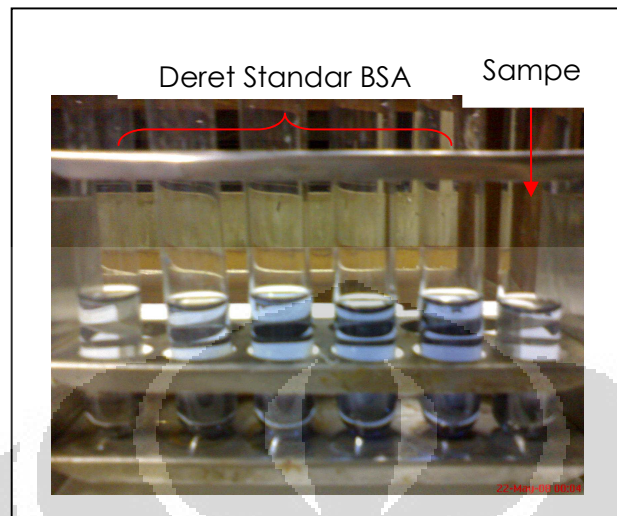


Gambar 4. Berbagai jenis MFC yang digunakan untuk sistem berkelanjutan¹⁴

Lampiran 7



Gambar 5. PEMMFC tipe H dengan dua kompartemen²⁷

Lampiran 8

Gambar 6. Deret standar dan sampel metode Lowry

Lampiran 9

Gambar 7. Lokasi Pengambilan Sampel

Lampiran 10

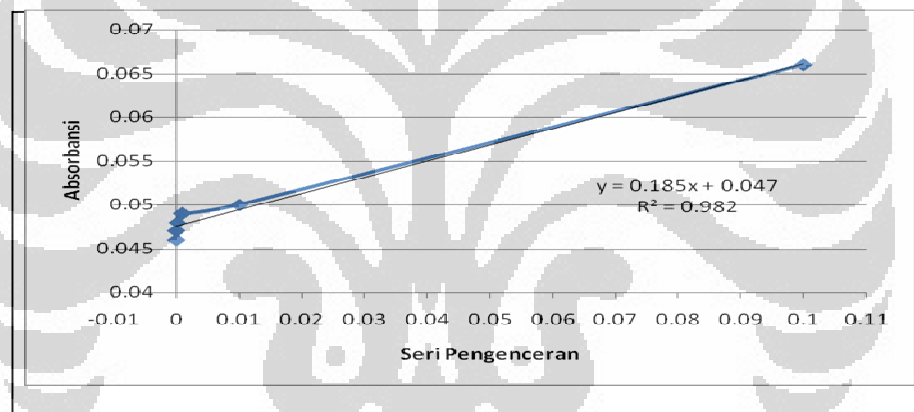
Tabel 2. Data hasil OD

Pengenceran	Absorbansi
10^{-1}	0,066
10^{-2}	0,05
10^{-3}	0,049
10^{-4}	0,048
10^{-5}	0,047

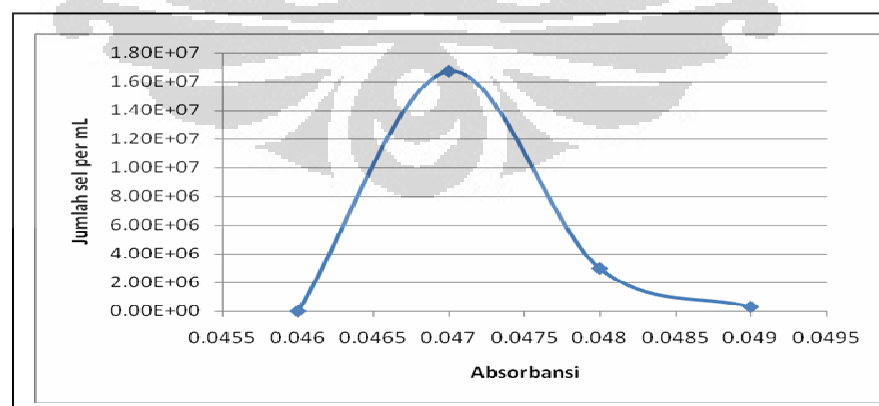
10^{-6}	0,046
Air limbah	0,19
0,5	0,112

Tabel 3. Data Hubungan Pengenceran, Absorbansi, dan TPC

Pengenceran	Absorbansi	TPC
0.1	0.066	
0.01	0.05	
0.001	0.049	3.00E+05
1.E-04	0.048	2.98E+06
1.E-05	0.047	1.67E+07
1.E-06	0.046	0.00E+00



Gambar 8. Hubungan antara seri pengenceran dan absorbansi

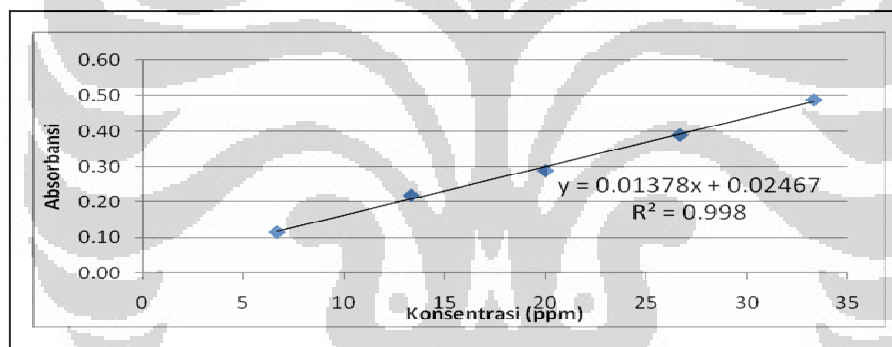


Gambar 9. Hubungan antara absorbansi dan jumlah sel per mL

Lampiran 11

Tabel 4. Data absorbansi metode Lowry

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	A sebenarnya		
Blanko	0.1410			
6.67	0.2560	0.1150		
13.33	0.3600	0.2190		
20	0.4300	0.2890		
26.67	0.5310	0.3900		
33.33	0.6300	0.4890		
sampel 1	0.3510	0.2100	→	Konsentrasi (ppm) 13.4492
sampel 2	0.3470	0.2060	→	13.1589
			Rata2	13.304



Gambar 10. Kurva deret standar BSA

Didapatkan persamaan deret standar BSA, yaitu :

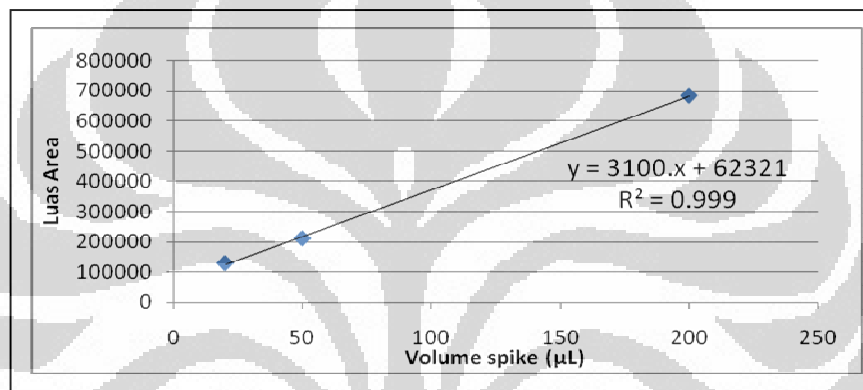
$$y = 0.01378 x + 0.02467 \quad R^2 = 0.998$$

Nilai absorbansi sampel dimasukkan sebagai y sehingga didapat x sebagai konsentrasi sampel dalam ppm

Lampiran 12

Tabel 5. Data kuantitatif HPLC

Volume <i>Spike</i> (μL) (x)	Area (y)	Waktu Retensi	Tinggi
-20,1	0	-	-
20	129 297	5.841	3 290
50	211 387	5.922	4 465
200	683 413	5.978	10 215



Gambar 11. Kurva *spike* glukosa dan luas area

Volume akhir air limbah 5 mL

Persamaan yang didapat $y = 3100,49 x + 62321,344$ $R^2 = 0,999$

Kadar glukosa dalam air limbah sebenarnya = $a \times 125.000 \text{ ppm}$

$$\begin{aligned}
 & b \mu\text{L}^{-1} \times 5000 \mu\text{L} \\
 & = \underline{62321,344 \times 125.000 \text{ ppm}} \\
 & \quad 3100,49 \mu\text{L}^{-1} \times 5000 \mu\text{L} \\
 & = 502, 512 \text{ ppm}
 \end{aligned}$$

Lampiran 13

Tabel 6. Hasil pengukuran tegangan dan arus kontrol

Waktu	E1 (mV)	E2(mV)	E rata ²	E/cm ²	I1(μA)	I2(μA)	I/cm ²
0	153,7	0	76,85	4,797	0	0	0
15	178,5	0	89,25	5,570	0	0	0
30	177,3	0	88,65	5,533	0	0	0
45	188,3	10,2	99,25	6,195	0	0	0
60	187,8	22,3	105,05	6,557	0	0	0
75	184,3	59,7	122,00	7,615	0	0	0
90	193,1	45,4	119,25	7,443	0	0	0
105	209,4	64,2	136,80	8,538	0	0	0
120	193,6	16,8	105,20	6,566	0	0	0

Lampiran 14

Tabel 7. Hasil pengukuran tegangan dan arus tanpa penambahan mediator

Waktu	E1(mV)	E2(mV)	E rata ²	E/cm ²	I1(μA)	I2(μA)	I rata ²	I/cm ²
0	259,6	233,2	246,4	15,379	3,8	4,6	4,2	0,262
1	213,5	40,3	126,9	7,920	3,7	4,5	4,1	0,256
2	150,6	158,8	154,7	9,655	3,7	4,5	4,1	0,256
3	176,3	195,9	186,1	11,615	3,5	4,3	3,9	0,243
4	123,0	283,4	203,2	12,683	3,3	4,3	3,8	0,237
5	148,9	280,1	214,5	13,388	3,3	4,3	3,8	0,237
6	150,1	292,7	221,4	13,818	3,2	4,2	3,7	0,231
7	155,4	299,2	227,3	14,187	3,0	4,2	3,6	0,225
8	134,4	329,4	231,9	14,474	3,0	4,0	3,5	0,218
9	159,8	311,0	235,4	14,692	3,0	4,0	3,5	0,218
10	136,3	340,9	238,6	14,892	3,0	3,8	3,4	0,212
11	150,4	332,2	241,3	15,061	3,0	3,8	3,4	0,212
12	130,0	357,2	243,6	15,204	3,0	3,6	3,3	0,206
13	146,8	344,4	245,6	15,329	3,0	3,6	3,3	0,206
14	116,8	378,2	247,5	15,448	2,9	3,5	3,2	0,200
15	139,3	358,5	248,9	15,535	2,9	3,5	3,2	0,200
16	111,7	388,1	249,9	15,597	2,7	3,5	3,1	0,193
17	134,8	367,8	251,3	15,685	2,8	3,4	3,1	0,193
18	112,9	392,9	252,9	15,785	2,8	3,4	3,1	0,193
19	129,6	377,2	253,4	15,816	2,8	3,2	3,0	0,187

20	113,0	395,4	254,2	15,866	2,8	3,2	3,0	0,187
21	105,9	404,1	255,0	15,916	2,8	3,2	3,0	0,187
22	125,2	385,8	255,5	15,947	2,8	3,2	3,0	0,187
23	100,7	389,9	245,3	15,310	2,8	3,2	3,0	0,187
24	121,4	392,4	256,9	16,034	2,8	3,2	3,0	0,187
25	105,5	409,3	257,4	16,065	2,8	3,2	3,0	0,187
26	122,2	393,4	257,8	16,090	2,8	3,2	3,0	0,187
27	99,5	417,1	258,3	16,122	2,8	3,2	3,0	0,187
28	117,8	399,6	258,7	16,147	2,7	3,1	2,9	0,181
29	92,3	425,1	258,7	16,147	2,7	3,1	2,9	0,181
30	112,8	405,6	259,2	16,178	2,7	3,1	2,9	0,181
31	93,9	425,1	259,5	16,196	2,7	3,1	2,9	0,181
32	111,9	407,3	259,6	16,203	2,5	3,1	2,8	0,175
33	83,7	436,3	260,0	16,228	2,6	3,0	2,8	0,175
34	106,7	413,7	260,2	16,240	2,6	3,0	2,8	0,175
35	88,7	432,1	260,4	16,253	2,6	3,0	2,8	0,175
36	107,4	413,8	260,6	16,265	2,6	3,0	2,8	0,175
37	88,8	432,2	260,5	16,259	2,6	3,0	2,8	0,175
38	112,6	408,8	260,7	16,271	2,5	2,9	2,7	0,169
39	93,7	427,9	260,8	16,278	2,5	2,9	2,7	0,169
40	109,2	412,6	260,9	16,284	2,5	2,9	2,7	0,169
41	88,9	432,5	260,7	16,271	2,5	2,9	2,7	0,169
42	105,6	416,4	261,0	16,290	2,5	2,7	2,6	0,162
43	87,9	434,5	261,2	16,303	2,5	2,7	2,6	0,162
44	104,6	417,6	261,1	16,296	2,5	2,7	2,6	0,162
45	84,7	437,3	261,0	16,290	2,5	2,7	2,6	0,162
46	104,3	417,5	260,9	16,284	2,5	2,7	2,6	0,162
47	84,9	436,9	260,9	16,284	2,5	2,7	2,6	0,162
48	102,3	419,5	260,9	16,284	2,3	2,7	2,5	0,156
49	88,6	433,0	260,8	16,278	2,4	2,6	2,5	0,156
50	102,3	419,3	260,8	16,278	2,4	2,6	2,5	0,156
51	82,9	438,7	260,8	16,278	2,4	2,6	2,5	0,156
52	101,1	420,5	260,8	16,278	2,4	2,6	2,5	0,156
53	80,8	440,8	260,8	16,278	2,4	2,6	2,5	0,156
54	97,9	423,7	260,8	16,278	2,4	2,6	2,5	0,156
55	81,7	439,9	260,8	16,278	2,4	2,6	2,5	0,156
56	97,3	424,3	260,8	16,278	2,4	2,6	2,5	0,156
57	83,2	437,8	260,5	16,259	2,4	2,6	2,5	0,156
58	98,1	422,9	260,5	16,259	2,4	2,6	2,5	0,156

59	73,0	448,0	260,5	16,259	2,4	2,6	2,5	0,156
60	94,5	426,5	260,5	16,259	2,3	2,5	2,4	0,150
75	100,1	417,9	259,0	16,165	2,0	2,4	2,2	0,137
90	150,0	364,6	257,3	16,059	1,7	2,3	2,0	0,125
105	127,1	383,9	255,5	15,947	1,7	2,3	2,0	0,125
120	133,3	374,1	253,7	15,834	1,8	2,2	2,0	0,125

Lampiran 15

Tabel 8. Hasil pengukuran tegangan dan arus dengan mediator MB

Waktu	E1(mV)	E2(mV)	Erata ²	E/cm ²	I1(μA)	I2(μA)	I rata ²	I/cm ²
0	280,3	206,9	243,6	32,053	2,8	2,0	2,4	0,316
1	281,1	208,5	244,8	32,211	2,8	1,8	2,3	0,303
2	283,6	208,8	246,2	32,395	2,6	2,2	2,4	0,316
3	284,4	211,0	247,7	32,592	2,7	2,3	2,5	0,329
4	285,2	211,6	248,4	32,684	2,7	2,3	2,5	0,329
5	286,7	212,3	249,5	32,829	2,7	2,1	2,4	0,316
6	287,3	212,9	250,1	32,908	2,5	2,1	2,3	0,303
7	287,9	213,3	250,6	32,974	2,5	2,1	2,3	0,303
8	288,2	213,8	251,0	33,026	2,5	1,9	2,2	0,289
9	289,0	213,8	251,4	33,079	2,4	2,0	2,2	0,289
10	289,5	213,9	251,7	33,118	2,4	2,0	2,2	0,289
11	290,1	213,9	252,0	33,158	2,3	1,9	2,1	0,276
12	290,4	214,4	252,4	33,211	2,3	1,9	2,1	0,276
13	290,9	214,5	252,7	33,250	2,2	1,8	2,0	0,263
14	291,4	214,6	253,0	33,289	2,2	1,8	2,0	0,263
15	291,8	214,6	253,2	33,316	2,2	1,8	2,0	0,263
16	292,0	214,8	253,4	33,342	2,2	1,8	2,0	0,263
17	292,2	215,0	253,6	33,368	2,1	1,7	1,9	0,250
18	292,6	214,8	253,7	33,382	2,1	1,7	1,9	0,250
19	292,9	214,9	253,9	33,408	2,1	1,7	1,9	0,250
20	293,0	215,0	254,0	33,421	2,1	1,7	1,9	0,250
21	293,3	215,1	254,2	33,447	2,0	1,6	1,8	0,237
22	293,5	214,9	254,2	33,447	2,0	1,6	1,8	0,237
23	293,6	215,2	254,4	33,474	2,0	1,6	1,8	0,237

24	293,5	214,9	254,2	33,447	2,0	1,6	1,8	0,237
25	293,6	215,0	254,3	33,461	1,9	1,5	1,7	0,224
26	293,6	215,4	254,5	33,487	1,9	1,5	1,7	0,224
27	293,6	215,4	254,5	33,487	1,9	1,5	1,7	0,224
28	293,6	215,6	254,6	33,500	1,9	1,5	1,7	0,224
29	293,7	215,5	254,6	33,500	1,9	1,5	1,7	0,224
30	293,7	215,7	254,7	33,513	1,9	1,5	1,7	0,224
31	293,7	215,7	254,7	33,513	1,9	1,5	1,7	0,224
32	293,7	215,7	254,7	33,513	1,9	1,5	1,7	0,224
33	293,7	215,7	254,7	33,513	1,8	1,4	1,6	0,211
34	293,8	215,8	254,8	33,526	1,8	1,4	1,6	0,211
35	293,8	215,8	254,8	33,526	1,8	1,4	1,6	0,211
36	293,8	215,8	254,8	33,526	1,8	1,4	1,6	0,211
37	293,8	215,8	254,8	33,526	1,8	1,4	1,6	0,211
38	293,8	215,8	254,8	33,526	1,8	1,4	1,6	0,211
39	293,8	215,8	254,8	33,526	1,8	1,4	1,6	0,211
40	293,8	215,8	254,8	33,526	1,8	1,4	1,6	0,211
41	293,8	215,6	254,7	33,513	1,7	1,3	1,5	0,197
42	293,8	215,6	254,7	33,513	1,7	1,3	1,5	0,197
43	293,6	215,8	254,7	33,513	1,7	1,3	1,5	0,197
44	293,6	215,6	254,6	33,500	1,7	1,3	1,5	0,197
45	293,6	215,6	254,6	33,500	1,7	1,3	1,5	0,197
46	293,4	215,6	254,5	33,487	1,7	1,3	1,5	0,197
47	293,4	215,6	254,5	33,487	1,7	1,3	1,5	0,197
48	293,4	215,6	254,5	33,487	1,7	1,3	1,5	0,197
49	293,4	215,6	254,5	33,487	1,6	1,2	1,4	0,184
50	293,2	215,6	254,4	33,474	1,6	1,2	1,4	0,184
51	293,5	215,1	254,3	33,461	1,6	1,2	1,4	0,184
52	293,4	215,2	254,3	33,461	1,6	1,2	1,4	0,184
53	293,4	215,2	254,3	33,461	1,6	1,2	1,4	0,184
54	293,4	215,0	254,2	33,447	1,6	1,2	1,4	0,184
55	293,2	215,0	254,1	33,434	1,6	1,2	1,4	0,184
56	293,2	215,0	254,1	33,434	1,6	1,2	1,4	0,184
57	293,1	214,9	254,0	33,421	1,6	1,2	1,4	0,184
58	293,0	214,8	253,9	33,408	1,6	1,2	1,4	0,184
59	292,8	215,0	253,9	33,408	1,6	1,2	1,4	0,184
60	292,7	214,9	253,8	33,395	1,6	1,2	1,4	0,184
75	292,6	212,6	252,6	33,237	1,5	1,1	1,3	0,171

90	292,1	210,3	251,2	33,053	1,5	1,1	1,3	0,171
105	291,3	208,5	249,9	32,882	1,5	1,1	1,3	0,171
120	290,9	205,9	248,4	32,684	1,4	1,0	1,2	0,158

Lampiran 16

Tabel 9. Hasil pengukuran tegangan dan arus dengan mediator MB feeding glukosa pada menit ke-15 dan 45

Waktu	E1(mV)	E2(mV)	E rata ²	E/cm ²	I1(μA)	I2(μA)	I rata ²	I/cm ²
0	221,4	183,0	202,2	26,605	2,6	2,8	2,7	0,355
1	221,9	184,1	203,0	26,711	2,6	3,0	2,8	0,368
2	222,2	184,6	203,4	26,763	2,6	2,8	2,7	0,355
3	222,6	184,8	203,7	26,803	2,7	2,5	2,6	0,342
4	223,0	185,4	204,2	26,868	2,3	2,7	2,5	0,329
5	223,4	186,0	204,7	26,934	2,6	3,2	2,9	0,382
6	223,7	185,9	204,8	26,947	2,3	2,9	2,6	0,342
7	224,1	186,1	205,1	26,987	2,2	2,8	2,5	0,329
8	224,8	186,2	205,5	27,039	2,2	2,8	2,5	0,329
9	225,2	186,8	206,0	27,105	2,1	2,7	2,4	0,316
10	225,5	187,1	206,3	27,145	2,1	2,7	2,4	0,316
11	225,7	187,1	206,4	27,158	2,1	2,7	2,4	0,316
12	225,8	187,4	206,6	27,184	2,0	2,6	2,3	0,303
13	226,0	188,0	207,0	27,237	2,0	2,6	2,3	0,303
14	226,3	188,1	207,2	27,263	2,0	2,6	2,3	0,303
15	226,1	187,9	207,0	27,237	2,0	2,6	2,3	0,303
16	226,3	188,3	207,3	27,276	1,9	2,3	2,1	0,276
17	226,4	188,2	207,3	27,276	1,9	1,9	1,9	0,250
18	226,4	188,4	207,4	27,289	1,8	2,0	1,9	0,250
19	226,8	188,6	207,7	27,329	1,6	2,4	2,0	0,263
20	226,8	188,6	207,7	27,329	1,9	2,3	2,1	0,276
21	226,9	189,1	208,0	27,368	1,4	2,4	1,9	0,250
22	227,0	189,4	208,2	27,395	1,6	2,4	2,0	0,263
23	227,2	189,4	208,3	27,408	1,6	2,4	2,0	0,263
24	227,3	189,7	208,5	27,434	1,6	2,4	2,0	0,263

25	227,6	189,8	208,7	27,461	1,8	2,0	1,9	0,250
26	227,8	190,0	208,9	27,487	1,8	2,2	2,0	0,263
27	228,1	189,9	209,0	27,500	1,5	2,3	1,9	0,250
28	228,1	190,1	209,1	27,513	1,5	2,3	1,9	0,250
29	228,2	190,0	209,1	27,513	1,5	2,3	1,9	0,250
30	228,5	190,3	209,4	27,553	1,5	2,3	1,9	0,250
31	228,6	190,6	209,6	27,579	1,5	2,3	1,9	0,250
32	228,8	190,6	209,7	27,592	1,5	2,3	1,9	0,250
33	228,9	190,9	209,9	27,618	1,5	2,1	1,8	0,237
34	229,1	190,9	210,0	27,632	1,4	2,2	1,8	0,237
35	229,1	191,1	210,1	27,645	1,4	2,2	1,8	0,237
36	229,2	191,2	210,2	27,658	1,4	2,2	1,8	0,237
37	229,3	191,3	210,3	27,671	1,6	2,4	2,0	0,263
38	229,5	191,7	210,6	27,711	1,5	2,3	1,9	0,250
39	229,7	191,9	210,8	27,737	1,4	2,2	1,8	0,237
40	229,7	192,1	210,9	27,750	1,3	2,1	1,7	0,224
41	229,8	192,0	210,9	27,750	1,3	2,1	1,7	0,224
42	229,9	192,1	211,0	27,763	1,3	2,1	1,7	0,224
43	230,0	192,2	211,1	27,776	1,3	2,1	1,7	0,224
44	230,1	192,7	211,4	27,816	1,3	2,1	1,7	0,224
45	230,3	192,7	211,5	27,829	1,3	2,1	1,7	0,224
46	230,6	191,4	211,0	27,763	1,6	2,4	2,0	0,263
47	230,2	191,8	211,0	27,763	1,6	2,4	2,0	0,263
48	230,0	192,0	211,0	27,763	1,4	2,2	1,8	0,237
49	230,0	192,2	211,1	27,776	1,4	2,2	1,8	0,237
50	230,2	192,2	211,2	27,789	1,4	2,2	1,8	0,237
51	230,3	192,1	211,2	27,789	1,4	2,2	1,8	0,237
52	230,3	192,7	211,5	27,829	1,4	2,0	1,7	0,224
53	230,7	192,3	211,5	27,829	1,4	2,2	1,8	0,237
54	230,7	192,7	211,7	27,855	1,5	1,9	1,7	0,224
55	230,8	192,8	211,8	27,868	1,4	2,2	1,8	0,237
56	230,9	192,7	211,8	27,868	1,5	1,9	1,7	0,224
57	230,9	192,7	211,8	27,868	1,4	2,2	1,8	0,237
58	230,9	192,7	211,8	27,868	1,5	1,9	1,7	0,224
59	231,2	192,8	212,0	27,895	1,5	1,9	1,7	0,224
60	231,0	193,0	212,0	27,895	1,4	2,0	1,7	0,224
75	232,4	193,6	213,0	28,026	1,4	1,8	1,6	0,211
90	232,7	195,1	213,9	28,145	1,3	1,7	1,5	0,197

105	232,9	196,3	214,6	28,237	1,2	1,8	1,5	0,197
120	233,6	197,2	215,4	28,342	1,2	1,6	1,4	0,184

Lampiran 17

Tabel 10. Hasil pengukuran tegangan dan arus dengan mediator FcDA

Waktu	E1(mV)	E2(mV)	E rata2	E/cm ²	I1(μA)	I2(μA)	Irata ²	I/cm ²
0	274,3	238,7	256,5	33,750	15,1	11,3	13,2	1,737
10	252,8	219,6	236,2	31,079	15,1	10,9	13,0	1,711
20	247,1	203,9	225,5	29,671	15,1	10,9	13,0	1,711
30	242,5	198,5	220,5	29,013	18,0	15,6	16,8	2,211
40	246,9	204,5	225,7	29,697	17,7	14,5	16,1	2,118
50	240,7	192,9	216,8	28,526	17,5	14,5	16,0	2,105
60	239,2	186,0	212,6	27,974	17,6	14,4	16,0	2,105
70	238,4	179,6	209,0	27,500	17,6	14,4	16,0	2,105
80	226,8	157,8	192,3	25,303	16,9	13,9	15,4	2,026
90	231,6	166,6	199,1	26,197	16,9	13,9	15,4	2,026
100	229,3	164,7	197,0	25,921	17,1	14,1	15,6	2,053
110	230,5	165,5	198,0	26,053	17,1	14,1	15,6	2,053
120	229,7	164,9	197,3	25,961	16,9	13,9	15,4	2,026

Lampiran 18



Gambar 12. *Effective Microorganism 4*