

Fermentasi Asam Asetat dari Nira Nipah (*Nypa Fruticans*) menggunakan *Acetobacter Pasteurianus* dengan Variasi Volume Inokulum dan Waktu Fermentasi

¹⁾Leni Triani, ²⁾Chairul, ²⁾Silvia Reni Yenti

¹⁾Mahasiswa Program Studi Teknik Kimia, ²⁾Dosen Jurusan Teknik Kimia
Fakultas Teknik, Universitas Riau
Kampus Binawidya Jl. HR Subrantas Km 12,5 Pekanbaru 28293
leni.triani@student.unri.ac.id

ABSTRACT

The main products are nipah sap which is obtained from not fruit bunches with high sugar concentrations so as to provide an opportunity in the utilization of nipah sap to be acetic acid. Acetic acid can be produced naturally from ingredients containing sugar through fermentation using bacteria. The variation of inoculums acetobacter pasteurianus is 10%, 13% and 16% and the time of acetic acid fermentation is 1, 3, 5, 7 and 9 days. The results of the analysis using the Nelson-Somogyi reagent revealed that the initial sugar concentration was 162,97 g/L. time of bioethanol fermentation is 24 hours. The maximum concentration of acetic acid obtained was 27,22 g/L with a pH of 3,47 and yield 33,09%. This maximum concentration was obtained on 9 days of acetic acid fermentation at 13% of acetobacter pasteurianus inoculums.

Keywords : *Acetobacter Pasteurianus, acetic acid, fermentation, inokulum, nipah sap.*

1. Pendahuluan

Di Provinsi Riau keberadaan tanaman nipah sangat berlimpah. Namun, keberadaannya belum termanfaatkan secara maksimal. Tanaman nipah juga banyak terdapat di Kabupaten Bengkalis dengan luas area tanaman nipah mencapai 69.000 hektar (Wibowo dkk, 2015). Produk utama tanaman nipah adalah nira yaitu cairan manis yang diperoleh dari tandan buah yang belum tua. Konsentrasi gula pada nira nipah berkisar antara 13-17% (b/v) (Antoni dkk, 2012).

Selama ini sebagian masyarakat dipesisir pantai memanfaatkan nira nipah untuk diminum langsung dan juga untuk pembuatan gula. Namun gula yang diperoleh mempunyai rasa sedikit asin dan kurang disukai konsumen, sehingga pengolahan nira menjadi gula tidak maksimal (Heriyanto dkk, 2011). Hal ini memberikan peluang dalam pemanfaatan nira menjadi produk yang lain yaitu asam asetat. Asam asetat merupakan komponen utama asam cuka (*vinegar*) yang pada umumnya dihasilkan oleh bakteri asam

asetat dengan bahan dasar yang mengandung gula seperti nira aren, nira kelapa, nira tebu dan buah-buahan.

Asam asetat atau asam cuka dapat diproduksi secara sintetis maupun secara alami melalui fermentasi menggunakan bakteri. Secara sintetis, asam asetat biasanya dihasilkan dari sumber petrokimia melalui karbonilasi metanol dan oksidasi fase cair dari butana, nafta dan asetaldehid. Mengingat pasokan bahan bakar fosil berkurang dan dorongan untuk lingkungan baru pada proses pengolahan berdasarkan sumber daya yang dapat diperbaharui (*renewable*), maka ada kemungkinan yang cukup besar dalam produksi asam asetat melalui rute berbasis bio.

Menurut Tamunaidu (2011), nira nipah berpotensi untuk menghasilkan 15.600 liter bioetanol per hektar, atau 2 kali lipat hasil yang diperoleh dari tebu, dan 6 kali lipat hasil dari jagung. Satu malai (tangcai) bunga nipah mampu memproduksi sekitar 3 liter nira per hari, setiap tangcai dapat dipanen terus menerus

selama sekitar 20 hari. Setiap rumpun pohon nipah mampu menghasilkan sekitar 4 tangkai pada waktu bersamaan. Dengan demikian, satu pohon nipah dapat menghasilkan 12 liter nira per hari (Riyadi, 2010). Dengan konsentrasi gula yang dimiliki tersebut, nira nipah berpotensi untuk diolah menjadi asam asetat.

Asam asetat memiliki berbagai aplikasi yaitu sebagai bahan untuk sintesis monomer vinil asetat (*Vinyl Acetate monomer*, VAM), etil asetat, butil asetat dan anhidrida asetat, sebagai pelarut untuk produksi asam tereftalat murni serta penggunaannya dalam industri makanan (asam cuka: E260) (Nguyen dkk, 2016). Selain itu, asam asetat juga dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan bioetanol melalui proses hidrogenolisis (Saka Laboratory, 2014).

Asam asetat diproduksi dan diekskresikan oleh bakteri-bakteri tertentu, misalnya dari genus *Acetobacter* dan spesies *Clostridium acetobutylicum*. Bakteri-bakteri ini terdapat pada makanan, air, dan juga tanah, sehingga asam asetat secara alami diproduksi pada buah-buahan/makanan yang telah basi. Proses tradisional untuk produksi vinegar atau asam asetat dari nira nipah meliputi proses fermentasi dua tahap dimana alkohol awalnya difermentasi dahulu menggunakan *yeast* kemudian dikonversi menjadi asam asetat menggunakan bakteri aerobik (Nguyen dkk, 2016).

2. Metodologi Penelitian

2.1 Bahan yang digunakan

Bahan yang digunakan yaitu nira nipah dari Kab.Bengkalis, *Saccharomyces Cerevisiae* Y-613 dan *Acetobacter Pasteurianus* B-377, *Glucose Yeast Peptone* agar (GYP) dan *broth*, *Potato Dextrose* agar (PDA) dan *broth* (PDB), reagen Nelson-Somogyi, NaOH, Asam Oksalat, indikator PP, aquades, urea, NPK, K₂HPO₄ dan MgSO₄.7H₂O.

2.2 Alat yang digunakan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah reaktor, erlenmeyer,

magnetic stirrer, *shaker*, *autoclave*, timbangan analitik, pH meter, rangkaian alat titrasi, tabung reaksi, gelas ukur, jarum ose, cawan petri, *vortex mixer*, inkubator dan *rotary evaporator*.

2.3 Prosedur Penelitian

Penelitian ini melalui beberapa tahapan dalam pengerjaannya, yaitu :

2.3.1 Tahap Persiapan

Sebelum digunakan, nira nipah terlebih dahulu dikentalkan dengan cara dipanaskan untuk menguapkan kadar air sebesar 20% pada suhu 100°C.

2.3.2 Tahap Sterilisasi

Alat-alat yang akan digunakan pada proses penyiapan inokulum dan proses fermentasi harus disterilisasi terlebih dahulu pada suhu 121°C selama 15 menit dengan menggunakan *autoclave*.

2.3.3 Peremajaan *S.Cerevisiae* dan *A. Pasteurianus*

Sebanyak satu ose dari biakan *Saccharomyces Cerevisiae* diambil kemudian digoreskan kedalam cawan petri yang berisi PDA yang sudah steril dan mengeras (Rifai, 2011). Sedangkan untuk *acetobacter pasteurianus* digoreskan kedalam cawan petri yang berisi GYP agar (Luwihana dkk, 2010). Lalu biakan ini diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 30°C.

2.3.4 Pembuatan Inokulum (Starter)

Jumlah volume inokulum *Saccharomyces Cerevisiae* dalam penelitian ini yaitu 10% sedangkan untuk *acetobacter pasteurianus* yaitu 10%, 13% dan 16%. Untuk biakan murni yang telah ditanam pada media pertumbuhan diambil menggunakan jarum ose dan diinokulasikan ke dalam 5 ml GYP cair untuk *acetobacter pasteurianus* dan PDA cair untuk *saccharomyces cerevisiae* lalu divortex dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C (Kusumawati, 2015).

Setelah waktu yang ditentukan tercapai, dari media cair diinokulasikan ke dalam media fermentasi nira nipah yang sudah berisi nutrisi dan sudah disterilisasi.

Lalu *distirrer* menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 150 rpm selama 18 jam (*saccharomyces cerevisiae*) dan 24 jam (*acetobacter pasteurianus*) pada suhu 30°C. Setelah inkubasi media ini dipakai sebagai starter (Kusumawati, 2015).

2.3.5 Fermentasi Bioetanol

Fermentasi dilakukan pada suhu ruang dengan kecepatan pengadukan 200 rpm. Proses fermentasi dilakukan dengan cara menambahkan nutrisi 0,4 g/l urea dan 0,5 g/l NPK terhadap volume media yaitu 1750 ml dan dimasukkan kedalam fermentor. Kemudian sterilisasi dilakukan pada suhu 121°C selama 15 menit dengan menggunakan *autoclave*. Setelah itu didinginkan pada suhu ruang. Kemudian inokulum ditambahkan kedalam medium fermentasi dan waktu fermentasi selama 24 jam.

2.3.6 Fermentasi Asam Asetat

Proses fermentasi dilakukan dengan menambahkan nutrisi 3,3 g/L K₂HPO₄, 1,1g/L MgSO₄.7H₂O terhadap volume media yaitu 540 ml dan dimasukkan kedalam fermentor. Lalu inokulum ditambahkan kedalam medium fermentasi. pH awal fermentasi asam asetat dipertahankan 6 dipertahankan. Proses fermentasi dilakukan dengan waktu pengambillan sampel yaitu 1, 3, 5, 7 dan 9 hari.

2.3.7 Analisis Hasil

Konsentrasi gula awal nira nipah dianalisa menggunakan reagen Nelson-Somogyi, bioetanol dianalisa menggunakan alkoholmeter. Sedangkan konsentrasi asam asetat hasil fermentasi dianalisa dengan titrasi menggunakan NaOH dan pH asam asetat dicek menggunakan pH meter.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Konsentrasi Gula Awal Nira Nipah

Substrat yang digunakan dalam penelitian ini adalah nira nipah. Konsentrasi gula awal nira nipah yang digunakan dianalis dengan reagen Nelson-

Somogyi menggunakan spektrofotometer UV-VIS dengan panjang gelombang $\lambda=540$ nm sehingga diperoleh konsentrasi gula awal nira nipah yaitu 162,97 g/L. Menurut Bai dkk (2008), batas maksimal konsentrasi gula awal sebagai medium fermentasi bagi *saccharomyces cerevisiae* adalah 250 mg/mL. dapat disimpulkan bahwa konsentrasi gula awal dalam penelitian ini masih berada dalam konsentrasi gula yang disarankan untuk fermentasi bioetanol.

3.1 Konsentrasi Bioetanol Hasil Fermentasi

Konsentrasi bioetanol memegang peranan penting dalam proses fermentasi, karena berhubungan dengan kemampuan pertumbuhan mikroba untuk produksi asam asetat. Dari fermentasi ini diperoleh bioetanol dengan konsentrasi 8% (v/v) atau 63,14 g/L dengan yield 75,82%. Reaksi yang terjadi pada fermentasi bioetanol adalah sebagai berikut :



Glukosa Bioetanol Karbondioksida

Saccharomyces cerevisiae memiliki enzim invertase dan enzim zimase. Jika gula yang tersedia dalam substrat merupakan gula mdisakarida maka enzim invertase akan bekerja menghidrolisis disakarida menjadi monosakarida. Setelah itu enzim zimase akan mengubah monosakarida tersebut menjadi bioetanol dan CO₂ (Azizah dkk, 2012).

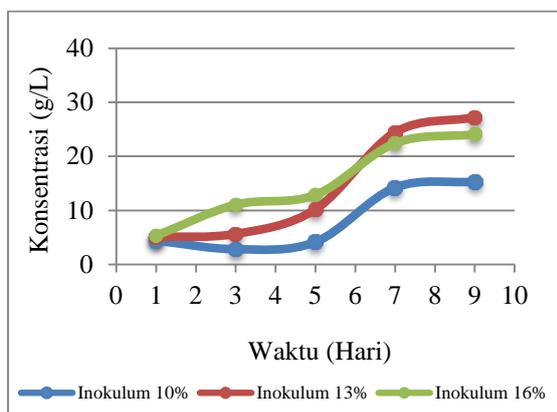
3.1 Konsentrasi dan pH Asam Asetat Hasil Fermentasi

Pada fermentasi asam asetat ini, substrat yang digunakan merupakan hasil fermentasi bioetanol tanpa pasteurisasi atau tanpa mematikan sel *saccharomyces cerevisiae*. Pengaruh volume inokulum *acetobacter pasteurianus* dan waktu fermentasi terhadap konsentrasi asam asetat ditunjukkan oleh Gambar 1.

Gambar 1 menunjukkan hubungan antara konsentrasi asam asetat dan waktu fermentasi dengan variasi volume

inokulum *Acetobacter Pasteurianus* pada substrat bioetanol 24 jam (konsentrasi 8% (v/v)). Dari gambar tersebut dapat dilihat bahwa terjadi kenaikan konsentrasi asam asetat dari hari ke-1 hingga hari ke-9 fermentasi. Pada hari ke-1 sampai hari ke-5 nilai konsentrasi asam asetat pada volume 16% lebih tinggi dibandingkan volume 10% dan 13%, tetapi pada hari ke-7 sampai hari ke-9 nilai konsentrasi asam asetat pada volume inokulum 13% lebih tinggi dari volume inokulum 16%. Dari data ini dapat disimpulkan bahwa volume inokulum optimum untuk substrat dengan konsentrasi bioetanol 8% (v/v) adalah 13%. Nilai tertinggi konsentrasi asam asetat diperoleh dari variasi volume inokulum 13% pada hari ke-9 fermentasi yaitu 27,22 g/L dan *yield* 33,09%.

Menurut Hardoyono (2007), waktu optimum proses asetifikasi adalah 11 hari, dimana mengalami peningkatan konsentrasi asam asetat pada hari ke-1 sampai hari ke-11 dengan konsentrasi asam asetat 6% dan mengalami penurunan dihari ke-12. Hal ini disebabkan karena beberapa faktor seperti konsentrasi inokulum yang ditambahkan dan bahan baku yang digunakan.

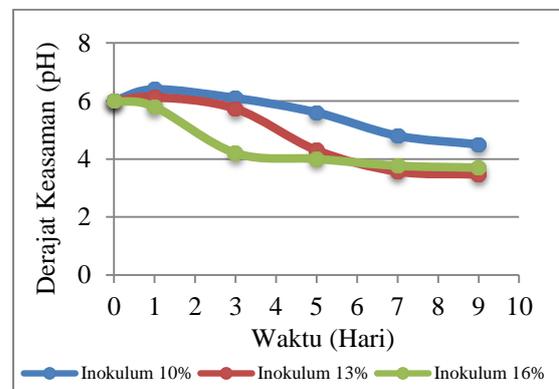


Gambar 1. Pengaruh volume Inokulum *Acetobacter Pasteurianus* dan Waktu Fermentasi terhadap Konsentrasi Asam Asetat.

Yield produksi asam asetat pada penelitian ini relatif rendah dibandingkan secara teoritis. Menurut Zheng dkk (2017), secara teoritis 1 g etanol akan dioksidasi

menjadi 1,3 gram asam asetat. Menurut Effendi (2002), secara umum teoritis efisiensi produk asam asetat berkisar antara 85-99% dan sisanya terbawa udara keluar. Dari asumsi tersebut berarti seluruh bioetanol diubah menjadi asam asetat. Pada kenyataannya, tidak mungkin semua bioetanol dapat diubah menjadi asam asetat sebab bioetanol juga digunakan oleh bakteri sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan dan perbanyakan sel (Januaresti dkk, 2016).

Pengaruh volume inokulum *acetobacter pasteurianus* dan waktu fermentasi terhadap pH asam asetat ditunjukkan pada Gambar 2 sebagai berikut.



Gambar 2. Pengaruh volume Inokulum *Acetobacter Pasteurianus* dan Waktu Fermentasi terhadap pH Asam Asetat.

Nilai pH pada volume inokulum 10% dan 13% menunjukkan kenaikan dari 6 menjadi 6,4 dan 6,2 pada hari ke-1. Sedangkan pH pada volume inokulum 16% turun dari pH awal 6 menjadi 5,8. Kenaikan pH pada hari ke-1 disebabkan karena kondisi pH fermentasi asam asetat masih memungkinkan untuk *saccharomyces cerevisiae* terus memperbanyak sel dibandingkan dengan *acetobacter Pasteurianus* yang baru memasuki fase pertumbuhan.

Menurut Priasty dkk (2013), pH pertumbuhan untuk *Saccharomyces Cerevisiae* berada pada rentang 3,5-6,5. Sehingga pada hari ke-1 fermentasi asetat, *Saccharomyces Cerevisiae* masih

memproduksi bioetanol. Bioetanol mengandung gugus alkohol yang merupakan senyawa hidroksida yang bersifat polar atau mudah menguap dan merupakan basa lemah yang memiliki pH 8,0-9,0. Ini berarti konsentrasi alkohol dalam medium berpengaruh terhadap peningkatan pH. Sehingga semakin tinggi konsentrasi alkohol dalam medium, pH akan semakin meningkat begitu pula sebaliknya. Nilai pH asam asetat pada hari ke-3 dengan volume inokulum 10% dan 13% terus mengalami penurunan hingga hari ke-9. Begitu juga pada inokulum 16% yang terus menurun mulai hari ke-1 hingga hari ke-9.

Nilai pH terbaik untuk Gambar 2 diperoleh pada variasi inokulum 13% dihari ke-9 fermentasi yaitu 3,47. Variasi volume inokulum 13% memiliki nilai pH yang lebih rendah dibandingkan volume inokulum 16% karena pada medium lebih banyak terbentuk asam asetat yang ditandai dengan menurunnya pH. Asam asetat merupakan senyawa karboksilat yang mempunyai sifat sebagai asam lemah. Apabila dalam medium terjadi penambahan asam asetat maka akan terjadi penurunan pH (Kusumawati, 2015).

4. Kesimpulan

Nira nipah dapat difermentasi menjadi asam asetat melalui proses dua tahap menggunakan *saccharomyces cerevisiae* dan *acetobacter pasteurianus*. Konsentrasi asam asetat maksimum adalah 27,22 g/L. Sedangkan volume inokulum *acetobacter pasteurianus* yang terbaik adalah 13% dengan waktu fermentasi 9 hari dengan substrat bioetanol yang digunakan yaitu 8% (v/v).

Daftar Pustaka

Antoni, R., Chairul dan Hafidawati. 2012. Fermentasi Nira Nipah (*Nypa Fruticans Wurmb*) menjadi Bioetanol menggunakan Kombinasi *Pichia Stipitis* dan *Saccharomyces Cerrevisiae* Dalam BIOFLO 2000 Fermentator. *Skripsi*. Program Studi Teknik

Kimia S1 Fakultas Teknik Universitas Riau.

- Azizah, N., Al-Barrii, A.N dan Mulyani, S. 2012. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol, pH dan Produksi Gas pada Proses Fermentasi Bioetanol dari Whey dengan Substitusi Kulit Nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. I(3). 72-77.
- Bai, F.W., Anderson, W.A dan Moo-Young, M. 2008. Ethanol fermentation technologies from sugar and starchn feedstocks. *Biotechnology Advances*. 26(1). 89-105.
- Effendi, M.S. 2002. Kinetika Fermentasi Asam Asetat (Vinegar) oleh Bakteri *Acetobacter aceti* B127 dari etanol hasil fermentasi limbah cair pulp kakao. *Jurnal Industri dan Teknologi Pangan*. 13(2). 125-134.
- Hardoyono. 2007. *Kondisi Optimum Fermentasi Asam Asetat Menggunakan Acetobacter aceti*. Balai Besar Teknologi Pati. Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi. Lampung.
- Heriyanto, N.M., Endro, S dan Endang, K. 2011. Potensi dan Sebaran Nipah (*Nypa Fruticans (Thunb.) Wurmb*) Sebagai Sumber daya Pangan. *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam*. 4 (8). 327-335.
- Januaresti, A., Ela T, S dan Yusman, T. 2016. Pengaruh Konsentrasi Inokulum *Acetobacter Aceti* dan Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Vinegar Murbei (*morus alba*). *Jurnal Jurusan Teknologi Pangan Universitas Pasundan*. 1-11.
- Kusumawati, W. 2015. Derajat Keasaman (pH) Vinegar dalam Media Limbah Fermentasi Biji Kakao Akibat Penambahan Konsentrasi *Acetobacter Aceti* dan Waktu Inkubasi. *El-Hayah*. 3 (5). 129-133.

- Luwihana, S., Kapti, R.K., Endang, S.R dan Slamet, S. 2010. Fermentasi Asam Asetat dengan Sel Amobil *Acetobacter Pasteurianus INT-7* dengan Variasi pH Awal dan Kadar Etanol. *Agritech*. 2 (30). 123-132.
- Priastry, E.W., Hasanuddin dan Kurnia, H.D. 2013. Kualitas Asam Cuka Kelapa (*Cocos nucifera L*) dengan Metode Lambat (Slow Methods). *Jurnal Agroindustri*. 1(3). 1-13.
- Rifai, M. 2011. Sakarifikasi dan Ko-Fermentasi Serentak Reject Pulp menjadi Bioetanol menggunakan Enzim Selulase dan Xilanase serta kombinasi *Saccharomyces Cerevisiae* dan *Pichia Stipitis*. *Skripsi*. Program Studi Teknik Kimia S1 Fakultas Teknik Universitas Riau.
- Tamunaidu, P., Kakihira, T., Miyasaka, H., dan Saka S. 2011. Prospect of nipa sap for bioethanol production. *Zero-Carbon Energy Kyoto 2010 : Green Energy and Technology*. 159-64.
- Wibowo, F., Chairul dan Irdoni. 2015. Pengaruh Kecepatan Pengaduk dan Waktu Fermentasi Terhadap Konsentrasi Bioetanol pada Fermentasi Nira Nipah Kental Menggunakan *Saccharomyces Cerevisiae*. *JOM FTEKNIK Universitas Riau*. 1 (2). 1-6.
- Zheng, Y., Renkuan, Z., Haisong, Y., Xiaolei, B., Yangang, C., Menglei., X dan Min, W. 2017. *Acetobacter Pasteurianus* metabolic change induced by initial acetic acid to adapt to acetic acid fermentation Conditions. *Applied Microbial and Cell Physiology*. Hal 1-10.