

Pengaruh Konsentrasi Gula Dan Waktu Fermentasi Terhadap Yield Asam Asetat Menggunakan Bahan Baku Nira Nipah Dan Bakteri *Acetobacter aceti*

Futhanul Wewe¹, Chairul², Syelvia Putri Utami²

¹Mahasiswa Program Studi Sarjana Teknik Kimia ²Dosen Jurusan Teknik Kimia,
Fakultas Teknik, Universitas Riau
Kampus Binawidya Jl. HR Subrantas Km 12,5 Simpang Baru, Panam
Pekanbaru 28293
futhanul.wewe@student.unri.ac.id

ABSTRACT

Nipah plants (Nypa fruticans) grown in province of Riau especially in Lubuk Muda vilage, Bengkalis regency with land area about 50 hectares. Nipah produce sap with high sugar concentration which can be used as an alternative material for acetic acid production by fermentation using microorganisms. The purpose of this study was to determine the effect of the initial sugar concentration of nipah sap and the time of acetic acid fermentation on yield of acetic acid using Saccharomyces cereviceae and Acetobacter aceti microorganisms. Variation of initial sugar concentration was 10%, 20% and 30%, while the fermentation time is 1, 3, 5, 7 and 9 days. Acetic acid fermentation process was carried out at pH 6, stirring speed of 200 rpm and 10% inoculum. The results of analysis using the Nelson-Somogyi method revealed that the highest sugar concentration was evaporation of nipa sap 30% (172.7223 g/L). The highest concentration of acetic acid was obtained 59.399 g/L or 5.94% and yield was 51.599%. The concentration and the highest yield was obtained at 30% evaporation and the 9th day of acetic acid fermentation.

Keywords : Acetic acid, Acetobacter aceti, fermentation, inoculum, nipah sap

1. PENDAHULUAN

Nipah secara ilmiah dikenal sebagai "*Nypa fruticans*" yang termasuk tanaman dari suku *palmae*. Nipah tumbuh di sepanjang sungai dekat muara yang dipengaruhi oleh pasang surut air laut. Nipah dapat tumbuh di wilayah Sri Lanka, Asia Tenggara sampai Australia Utara (Subiandono, 2011). Indonesia memiliki potensi hutan nipah terluas di dunia dengan luas sekitar 700.000 hektar, diikuti oleh negara Papua Nugini (500.000 hektar), Malaysia (20.000 hektar) dan Filipina (8.000 hektar) (Tamunaidu dan Saka, 2011). Persebaran tumbuhan nipah di Indonesia terdapat di pulau Sumatera, Kalimantan, Jawa, Sulawesi, Maluku dan Irian Jaya (Hadi dkk., 2013). Kabupaten Bengkalis merupakan salah satu daerah

penghasil tanaman nipah di Propinsi Riau dengan luas lahan sekitar 100 hektar. Desa Lubuk Muda yang berada di Kecamatan Siak Kecil Kabupaten Bengkalis merupakan salah satu desa yang ditumbuhi tanaman nipah dengan luas lahan sekitar 50 hektar (Astuti dkk., 2016).

Nipah dapat menghasilkan nira, yaitu cairan manis yang dapat diambil dari tandan bunga nipah dengan cara disadap. Nira nipah memiliki komposisi gula yang tinggi, yaitu 18,6% dengan pembagian sukrosa 11,1%, glukosa 5,9% dan fruktosa 1,6% (Tamunaidu dkk., 2013).

Asam asetat dimanfaatkan dalam berbagai bidang industri, seperti industri makanan, industri plastik, industri tekstil dan juga dalam bidang farmasi (Tammali

dkk., 2003). Di Indonesia, produksi asam asetat masih belum mencukupi. Hal ini terlihat dalam jumlah impor yang terus meningkat dalam tiga tahun terakhir. Pada tahun 2016 sampai dengan tahun 2018, jumlah impor asam asetat meningkat dari angka 34.602 ton hingga 37.659 ton (BPS, 2018).

Asam asetat biasanya diproduksi menggunakan bahan baku petrokimia seperti metanol, asetaldehid, butana dan etilen dengan menggunakan beberapa metode seperti metode karbonilasi metanol, oksidasi etilen dan oksidasi hidrokarbon (Vidra dan Nemeth, 2017). Persediaan bahan bakar fosil yang semakin langka memunculkan inovasi untuk penggunaan bahan yang terbarukan dalam proses pembuatan asam asetat, yaitu proses secara biologi dengan cara fermentasi. Produksi asam asetat melalui jalur biologis menggunakan dua tahap fermentasi yaitu fermentasi alkohol menggunakan ragi dan konversi alkohol menjadi asam asetat menggunakan bakteri aerobik (Nguyen dkk., 2016). Pada penelitian ini, proses fermentasi asam asetat dilakukan dengan menggunakan mikroorganisme berupa *Saccharomyces cerevicae* dan bakteri *Acetobacter aceti* serta bahan baku menggunakan nira nipah. Kadar sukrosa yang tinggi pada nira nipah dapat dimanfaatkan sebagai bahan alternatif untuk pembuatan asam asetat.

2. METODOLOGI PENELITIAN

2.1. Bahan

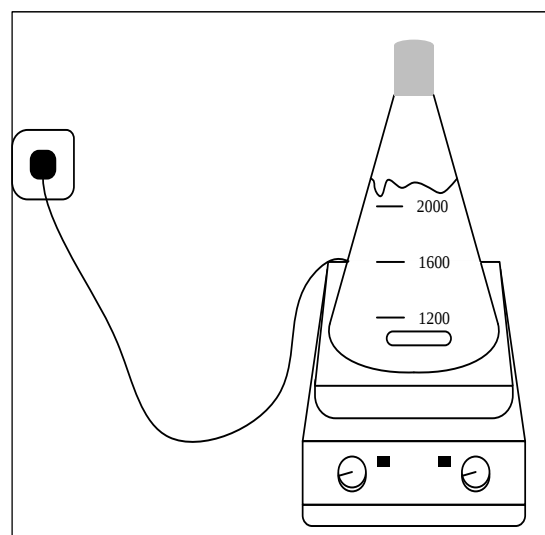
Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah nira nipah sebanyak 2000 ml, mikroorganisme berupa ragi *Saccharomyces cerevicae* dan bakteri *Acetobacter aceti*, media tumbuh berupa GYP agar (*Glucose Yeast Extract*) dan PDA (*Potato Dextrose Agar*), akuades, asam oksalat ($\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 0,1 N, NaOH 0,1 N, reagen Nelson-Samogyi, larutan arsenomolybdat, nutrisi media tumbuh mikroorganisme yang terdiri dari urea, NPK, KH_2PO_4 dan $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

2.2. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu erlenmeyer 2 liter yang digunakan sebagai biofermentor, *magnetic stirrer*, *autoclave*, *hot plate*, erlenmeyer 500 ml, gelas kimia 250 ml, timbangan analitik, rangkaian alat titrasi, inkubator, lampu bunsen, tabung reaksi, gelas ukur, pipet tetes, pipet volume, pH meter, alkoholmeter, batang pengaduk, jarum ose dan cawan petri.

2.3. Variabel Penelitian

Variabel tetap pada penelitian ini yaitu kecepatan pengadukan 200 rpm, volume inokulum 10%, waktu fermentasi alkohol 5 hari dan suhu fermentasi 30 °C. Variabel berubah pada penelitian ini adalah konsentrasi gula pada penguapan (10%, 20% dan 30%) dan waktu fermentasi (1, 3, 5, 7 dan 9 hari).



Gambar 1. Rangkaian Alat

2.4. Tahapan Sterilisasi

Semua peralatan dan media nira nipah 2000 ml yang akan digunakan dalam pembuatan starter dan proses fermentasi harus disterilkan terlebih dahulu menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121 °C. Proses sterilisasi bertujuan untuk mencegah terjadinya kontaminasi pada alat yang dapat mempengaruhi proses fermentasi.

2.5. Tahapan Penelitian

2.5.1. Fermentasi Bioetanol

Biakan murni *Saccharomyces cerevisiae* diambil sebanyak 1 jarum ose dan digoreskan pada medium biakan berupa *Potato Dextrose Agar* (PDA). Setelah itu, dilakukan proses inkubasi selama 24 jam pada suhu 30 °C. Media inokulum dibuat sebanyak 200 ml, ditambahkan nutrisi berupa urea sebanyak 0,4 g/l dan NPK sebanyak 0,5 g/l dan disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121 °C. Biakan bakteri *Saccharomyces cerevisiae* diambil sebanyak 4 ose dan dimasukkan ke dalam 5 ml media cair PDB (*Potato Dextrose Broth*) lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30 °C dan dituangkan ke dalam media inokulum. Inokulum diaduk menggunakan *shaker* selama 24 jam dan dilakukan analisa nilai OD (*Optical Density*). Proses fermentasi dilakukan dengan cara menambahkan inokulum ke dalam 3 media fermentasi. Fermentasi dilakukan pada suhu 30 °C, pH 5 dan kecepatan pengadukan 200 rpm menggunakan *magnetic stirrer*. Waktu fermentasi dilakukan selama 5 hari. Setelah proses fermentasi selesai, dilakukan proses evaporasi menggunakan *rotary evaporator* dan menghitung konsentrasi bioetanol terbentuk menggunakan alkoholmeter.

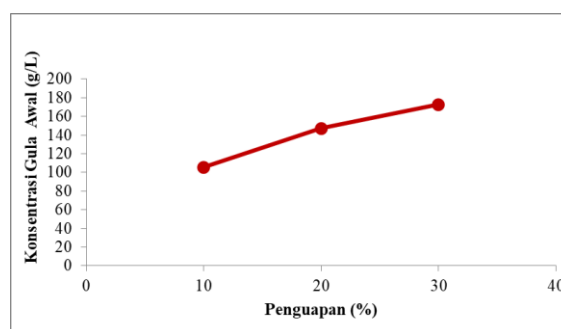
2.5.2. Fermentasi Asam Asetat

Biakan murni *Acetobacter aceti* diambil sebanyak 1 jarum ose dan digoreskan pada medium biakan berupa GYP (*Glucose Yeast Extract*). Setelah itu, dilakukan proses inkubasi selama 24 jam pada suhu 30 °C. Media inokulum dibuat sebanyak 150 ml, ditambahkan nutrisi berupa KH_2PO_4 sebanyak 1,2 g/l dan $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 0,5 g/l. Biakan bakteri *Acetobacter aceti* diambil sebanyak 3 ose dan dimasukkan ke dalam 5 ml media cair GYP *Broth* lalu diinkubasi selama 36 jam pada suhu 30 °C dan dituangkan ke dalam media inokulum. Inokulum diaduk menggunakan *shaker* selama 24 jam dan dilakukan analisa nilai OD (*Optical Density*). Proses fermentasi dilakukan

dengan cara menambahkan inokulum ke dalam 3 media hasil fermentasi bioetanol. Fermentasi dilakukan pada suhu 30 °C, pH 6 dan kecepatan pengadukan 200 rpm menggunakan *magnetic stirrer*. Waktu fermentasi dilakukan selama 1, 3, 5, 7 dan 9 hari. Setelah proses fermentasi selesai, dilakukan analisa gula sisa dan konsentrasi asam asetat yang dihasilkan.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada Gambar 2 menunjukkan hubungan antara penguapan nira nipah dengan nilai konsentrasi gula. Berdasarkan gambar dapat dilihat bahwa terjadi kenaikan konsentrasi gula nira nipah dari penguapan 10% volume awal hingga penguapan 30% volume awal. Pada penguapan 10%, konsentrasi gula yang diperoleh yaitu sebesar 105,71 g/L. Sedangkan pada penguapan 30%, nilai konsentrasi gula diperoleh lebih tinggi yaitu sebesar 172,72 g/L. Berdasarkan data tersebut, dapat dikatakan bahwa semakin tinggi volume nira nipah yang diuapkan maka akan semakin meningkatkan nilai konsentrasi gula nira nipah.



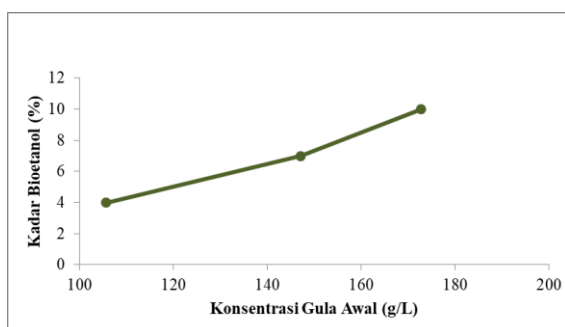
Gambar 2. Pengaruh Besarnya Penguapan Terhadap Konsentrasi Gula Awal

Menurut Kurniawan dkk (2015), proses pemanasan dan penguapan mempengaruhi konsentrasi gula reduksi sampel yang dianalisis. Proses pemanasan dalam waktu yang lama akan meningkatkan kekentalan sampel, sehingga nilai konsentrasi gula reduksi yang dianalisis akan semakin meningkat. Hal ini disebabkan karena pada proses pemanasan, terjadi pemecahan gula kompleks berupa sukrosa menjadi gula sederhana seperti

glukosa, fruktosa dan gula invert yang dapat diukur menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis.

Proses penguapan juga bertujuan untuk mengurangi kadar air yang ada pada bahan baku nira nipah. Hal ini bertujuan untuk meningkatkan efektifitas kerja enzim, karena pada bahan yang mengandung kadar air yang tinggi akan memperlambat kerja enzim. Hal ini disebabkan karena kadar air yang tinggi pada substrat membuat energi enzim cepat habis untuk mengubah glukosa menjadi bioetanol (Hutasoit dkk, 2016).

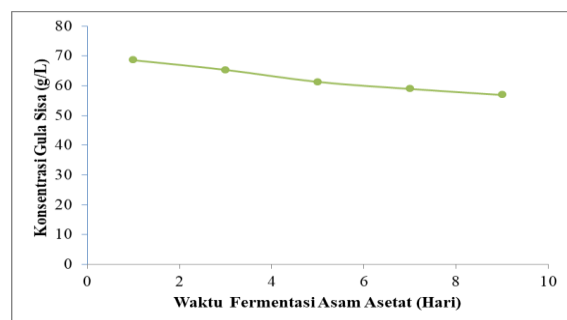
Pada Gambar 3 menunjukkan hubungan antara konsentrasi gula awal terhadap konsentrasi bioetanol hasil fermentasi. Berdasarkan gambar dapat dilihat bahwa konsentrasi bioetanol yang dihasilkan semakin meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi gula awal bahan baku nira nipah. Konsentrasi bioetanol paling rendah adalah sebesar 4% dengan konsentrasi gula awal sebesar 105,71 g/L. Sedangkan bioetanol tertinggi dihasilkan sebesar 10% dengan konsentrasi gula awal sebesar 172,72 g/L. Hasil ini sesuai dengan pendapat Hutasoit dkk (2016) yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi substrat atau gula reduksi yang dapat dipecah oleh sel *Saccharomyces cereviceae* menjadi bioetanol maka semakin tinggi pula konsentrasi bioetanol yang dihasilkan. Hal ini dikarenakan pada konsentrasi gula yang lebih tinggi, tersedia lebih banyak substrat yang dapat dikonversi menjadi bioetanol.



Gambar 3. Pengaruh Konsentrasi Gula Awal Terhadap Konsentrasi Bioetanol Hasil Fermentasi

Konsentrasi gula yang baik untuk pertumbuhan *Saccharomyces cereviceae* adalah antara 10 - 18% dan menghasilkan kadar alkohol sebesar 6 - 12% (Jannah, 2010). Apabila konsentrasi gula yang digunakan lebih dari 18% atau kurang dari 10% akan mengakibatkan pertumbuhan ragi terhambat dan waktu fermentasi lebih lama, sehingga konsentrasi bioetanol yang dihasilkan akan rendah. Hal ini disebabkan karena adanya pengaruh tekanan osmosis akibat dari perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel mikroorganisme yang akan menyebabkan gangguan pada sistem metabolisme di dalam sel bakteri.

Pada Gambar 4 menunjukkan hubungan antara konsentrasi gula awal dan waktu fermentasi terhadap *yield* asam asetat. Berdasarkan gambar dapat dilihat bahwa nilai *yield* asam asetat semakin meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi gula awal bahan baku nira nipah. Selain itu, waktu fermentasi juga mempengaruhi nilai *yield* dari asam asetat. Semakin lama waktu fermentasi, maka *yield* asam asetat yang dihasilkan akan semakin meningkat.

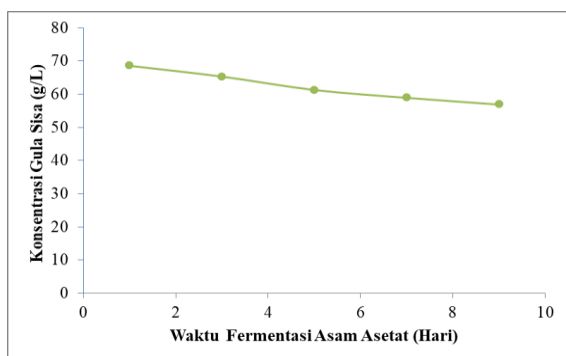


Gambar 4. Pengaruh Konsentrasi Gula Awal Dan Waktu Fermentasi Terhadap *Yield* Asam Asetat

Pada penelitian ini, kadar bioetanol tertinggi yaitu sebesar 10% pada konsentrasi gula awal sebesar 172,7223 g/L. Jika bioetanol yang dihasilkan semakin banyak, maka asam asetat yang dihasilkan juga semakin banyak. Hal ini disebabkan karena gula merupakan media untuk tumbuhnya mikroorganisme, sehingga semakin tinggi konsentrasi gula yang ditambahkan maka kerja bakteri merombak

gula pun semakin besar. Gula dimanfaatkan oleh *Saccharomyces cerevicae* untuk memproduksi bioetanol dan selanjutnya bioetanol dikonversi menjadi asam asetat oleh bakteri *Acetobacter aceti*. Selain itu, gula yang ada pada medium fermentasi juga digunakan oleh *Acetobacter aceti* sebagai sumber nutrisi karbon. Sedangkan alkohol dimanfaatkan oleh bakteri *Acetobacter aceti* sebagai medium untuk hidup dan sumber energi untuk menghasilkan asam asetat dan gas CO₂ (Putra dkk, 2017).

Pada Gambar 5 menunjukkan hubungan antara waktu fermentasi terhadap konsentrasi gula sisa hasil fermentasi asam asetat. Berdasarkan gambar dapat dilihat bahwa pada konsentrasi bioetanol 10%, konsentrasi gula pada akhir fermentasi asam asetat mengalami penurunan dari 68,57 g/L menjadi 56,90 g/L. Konsentrasi gula yang semakin berkurang diakibatkan karena telah terjadi pembentukan produk lanjutan dari proses fermentasi. Produk lanjutan yang dihasilkan berupa asam asetat yang terbentuk dari bioetanol hasil produksi fermentasi alkohol yang mengalami reaksi perubahan bioetanol menjadi asam asetat oleh mikroorganisme *Acetobacter aceti*.



Gambar 5. Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Konsentrasi Gula Sisa Hasil Fermentasi Asam Asetat

Subiandono dkk (2011) mengatakan bahwa mikroorganisme *Saccharomyces cerevicae* mampu hidup pada suhu tinggi, toleran terhadap bioetanol yang tinggi, tetap stabil selama kondisi fermentasi, dan dapat bertahan hidup pada pH rendah. Oleh sebab itu, pada saat proses fermentasi asam

asetat mikroorganisme *Saccharomyces cerevicae* masih mampu melakukan aktivitas perombakan gula. Konsentrasi gula yang masih tersisa pada akhir proses fermentasi asam asetat menunjukkan bahwa adanya gula yang tidak dimanfaatkan oleh mikroorganisme *Saccharomyces cerevicae* untuk pembentukan bioetanol dan bakteri *Acetobacter aceti* lebih memilih bioetanol sebagai sumber karbon untuk pembentukan asam asetat (Nurismanto dkk, 2014). Selain diakibatkan oleh aktivitas mikroorganisme *Saccharomyces cerevicae*, pada fermentasi asam asetat sumber karbon (gula) akan dioksidasi menjadi CO₂ dan H₂O. Hal itulah yang menyebabkan konsentrasi gula semakin lama semakin rendah (Putra dkk, 2017).

4. KESIMPULAN

Asam asetat dapat dihasilkan dari bahan baku berupa nira nipah dengan proses fermentasi 2 tahap menggunakan mikroorganisme *Saccharomyces cerevicae* dan *Acetobacter aceti*. Konsentrasi asam asetat tertinggi diperoleh sebesar 59,39 g/L dengan *yield* sebesar 51,59% pada waktu fermentasi selama 9 hari. Semakin tinggi konsentrasi gula awal yang digunakan pada proses fermentasi, maka konsentrasi dan *yield* asam asetat yang dihasilkan juga semakin meningkat. Semakin lama waktu fermentasi yang dibutuhkan pada proses fermentasi asam asetat, maka konsentrasi dan *yield* asam asetat yang dihasilkan juga semakin meningkat.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuti, J., Yoza, D. and Sulaeman R. (2016). Potensi Biomasa Nipah (*Nypa Fruticans* Wurmb.) Di Desa Lubuk Muda Kecamatan Siak Kecil Kabupaten Bengkalis. *JOM FAPERTA*. 1(3).
- BPS Indonesia. (2018). Data Impor Asam Asetat. <https://www.bps.go.id/>. 1 Agustus 2018.
- Hadi, S., Thamrin and Bahry, S.S. (2013). Karakteristik Dan Potensi

- Bioethanol Dari Nira Nipah (*Nypa Fruticans*) Untuk Penerapan Skala Teknologi Tepat Guna. *Jurnal Ilmu Lingkungan*. 7(2): 223-240.
- Hutasoit, J., Griyantoro, D. and Melwita, E. (2016). Pengaruh Waktu Fermentasi Dan Kadar Air Nira Nipah Dalam Pembuatan Bioetanol Menggunakan *Saccharomyces Cerevicae*. *Jurnal Teknik Kimia*. 2(22): 46-53.
- Jannah, A.M. (2010). Proses Fermentasi Hidrolisat Jerami Padi Untuk Menghasilkan Bioetanol. *Jurnal Teknik Kimia*. 1(17): 44-52.
- Kurniawan, F., Sri, H. and Dewi, H. (2015). Pengaruh Pemanasan Terhadap Kadar Pati Dan Gula Reduksi Pada Tepung Biji Nangka (*Artocarpus Heterpphyllud Lamk*). *Prosiding Seminar Nasional Sains Dan Pendidikan Sains*. Hal 1-10.
- Nguyen, D.V., Pinthep, S., Harifara, R., Eiji, M., Haruo, K. and Saka, S. (2016). Efficient Production Of Acetic Acid From Nipa (*Nypa Fruticans*) Sap By *Moorella Thermoacetica* (F. *Clostridium Thermoaceticum*). *International Journal Of Green Technology*. 2: 1-12.
- Putra, G.P.G., Wartini, N.M. and Darmayanti, L.P.T. (2017). Kajian Metode Dan Waktu Fermentasi Cairan Pulpa Pada Perubahan Karakteristik Cuka Kakao. *AGRITECH*. 37(1): 38-47.
- Subiandono, E., Heriyanto, N.M. and Endang, K. (2011). Potensi Nipah (*Nypa Fruticans* (Thumb.) Wurmb.) Sebagai Sumber Pangan Dari Hutan Mangrove. *Buletin Plasma Nutfah*. 1(17): 54-60.
- Tammali, R., Seenaya, G. and Redy, G. (2003). Fermentation Of Cellulose To Acetic Acid By *Clostridium Lentocellum* SG6: Induction Of Sporulation And Effect Of Buffering Agent On Acetic Acid Production. *Letters In Applied Microbiology*. 37: 304-308.
- Tamunaidu, P. and Saka, S. (2011). Chemical Characterization Of Various Parts Of Nipa Palm (*Nypa Fruticans*). *Industrial Crops And Product*. 34(3): 1423-1428.
- Tamunaidu, P., Matsui, N., Okimori, Y. and Saka, S. (2013). Nipa (*Nypa Fruticans*) Sap As A Potential Feedstock For Ethanol Production. *Biomass And Bioenergy*. 52: 96-102.
- Vidra, A. and Nemeth, A. (2017). Bio-produce Acetic Acid: Review. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*. Department Of Applied Biotechnology And Food Science. Budapest.