

Pengaruh Konsentrasi Gula dan Waktu Fermentasi terhadap Fermentasi Asam Asetat menggunakan Kulit Nanas dan *Acetobacter aceti*

Ahmad Dedi Fadillah¹⁾, Chairul²⁾, Cory Dian Alfarisi²⁾

¹⁾Mahasiswa Program Studi Teknik Kimia, ²⁾Dosen Teknik Kimia

Laboratorium Rekayasa Bioproses

Program Studi Teknik Kimia S1, Fakultas Teknik Universitas Riau

Kampus Bina Widya Jl. HR. Soebrantas Km. 12,5 Simpang Baru, Panam,

Pekanbaru 28293

Email : ahmad.dedi1295@gmail.com

ABSTRACT

Pineapple (*Ananas comosus* (L) Merr) is a fruit which has a golden yellow color. Pineapple can thrive in tropical climates such as in Indonesia. Pineapple production in Indonesia in 2009 was 1,558,196 tons. The sugar contained in pineapple is 2.32% glucose, 1.42% fructose, and 7.89% sucrose. So that it can be used as an alternative material for the production of acetic acid. Acetic acid can be produced from raw materials containing starch or sugar by fermentation using microorganisms. The purpose of this study was to determine the effect of fermentation time and sugar concentration on the yield of acetic acid produced and to find out the optimal time and concentration of sugar in pineapple rind fermentation into acetic acid using *Saccharomyces cerevisiae* and *Acetobacter aceti* bacteria. The initial sugar concentration variations were 10%, 20%, and 30%, while the fermentation time was 2, 3, 4, 5, 6 days. The acetic acid fermentation process was carried out at pH 6, stirring speed 200 rpm and 10% inoculum. The test results using the Nelson-Samogyi method showed that the highest sugar concentration was 30% (174,678 g/L) of sugar added to pineapple rind raw material. The highest concentration of acetic acid was obtained 35.581 g/L and the yield of 30.555%. The best fermentation time is the 6th day of fermentation.

Keywords: *Acetobacter aceti*, acetic acid, fermentation, inoculum, pineapple

1. PENDAHULUAN

Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr) adalah buah yang memiliki mata yang banyak dan memiliki warna kuning keemasan. Tumbuhan nanas sendiri dapat tumbuh subur di daerah beriklim tropis seperti di Indonesia dengan masa panen relatif singkat, yaitu antara 2 sampai 3 kali setahun. Tumbuhan ini termasuk dalam familia *Bromeliaceae*. Habitat tumbuhnya rendah, herba (menahun) dengan 30 atau lebih daun yang panjang, berujung tajam, tersusun dalam bentuk roset mengelilingi batang yang tebal.

Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr) di Indonesia merupakan salah satu tanaman

buah tropika penting ketiga setelah pisang dan jeruk. Produksi nanas di Indonesia pada tahun 2009 sebesar 1.558.196 ton (BPS, 2010). Nanas memiliki kandungan air 90% dan kaya akan kalium, kalsium, fosfor, magnesium, zat besi, natrium, iodium, sulfur, dan khor. Selain itu, juga kaya asam, biotin, vitamin A, vitamin B12, vitamin C, vitamin E, dekstrosa, sukrosa atau tebu, serta enzim bromelin, yaitu enzim protease yang dapat menghidrolisis protein, atau peptida. Gula yang terkandung dalam nanas yaitu glukosa 2,32%, fruktosa 1,42%, dan sukrosa 7,89%. Asam asam yang terkandung dalam buah nanas adalah asam sitrat 78% dari total asam, asam malat, dan asam oksalat. Dengan

semakin meningkatnya produksi nanas, maka limbah yang dihasilkan akan semakin meningkat. (Irfandi,2005).

Dan konsumsi buah nanas akan memberikan sampah berupa kulit yang cukup banyak yaitu sebesar 43,61% berat, yang masih mengandung kadar karbohidrat sekitar 10,54%. Penelitian pembuatan etanol dengan sari kulit nanas diketahui kadar glukosa sari kulit nanas sebesar 17%. (Ari Diana S., dkk, 2013)

Asam asetat merupakan salah satu asam karboksilat organik sederhana yang tergolong ke dalam asam lemah, tidak berwarna, dan memiliki bau yang sangat menyengat (Hassan dkk., 2012). Asam asetat dimanfaatkan dalam berbagai bidang industri, seperti industri makanan, industri plastik, industri tekstil, dan juga dalam bidang farmasi (Tammali dkk., 2003). Asam asetat juga berpotensi dijadikan sebagai sumber energi terbarukan yaitu sebagai bahan baku pembuatan bioetanol menggunakan proses hidrogenasi menggunakan katalis (Saka dkk., 2014).

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). Asam asetat adalah salah satu pereaksi kimia terpenting di dunia. Kebutuhan dunia akan asam asetat terus meningkat dari tahun ketahun. Menurut Cheung dkk (2005), kebutuhan tersebut mencapai 6,5 juta ton per tahun, 1,5 juta ton pertahun. Pada tahun 2016 jumlah impor asam asetat di Indonesia yaitu 59446,75 ton dan pada tahun 2017 meningkat menjadi 69372,27 ton (BPS, 2018). Kebutuhan asam asetat ini hanya dapat dipenuhi oleh satu-satunya produsen lokal yang berdiri sejak 1988 yaitu PT. Indo Acidatama Chemical Industri dengan kapasitas 16.500 ton/tahun dengan kemurnian asam asetat 99.8% (PT. Indo Acidatama Tbk, 2015).

2. METODE PENELITIAN

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Reaktor kapasitas 2 liter yang digunakan sebagai biofermentor, *magnetic stirrer*, *autoclave*, Erlenmeyer 2 liter, Erlenmeyer 250 ml, pipet volume 100 ml, timbangan analitik, pH meter, rangkaian alat titrasi, tabung reaksi, gelas ukur 100 ml, pipet tetes, piknometer 10 ml, *viscometer Ostwald*, jarum ose, cawan petri, inkubator, dan rotary evaporator.

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit nanas. Bahan-bahan lain yang digunakan yaitu *Saccharomyces Cereviciae Y-613* dan *Acetobacter Aceti*, Nutrient Agar, PDA, reagen benedict, larutan FeCl₃, reagen nelson-Somogyi, NaOH, Indikator PP, akuades, Urea, NPK.

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan, yaitu persiapan bahan baku, tahap sterilisasi, penyiapan media fermentasi, pembuatan inokulum *Saccharomyces cereviciae*, pembuatan inokulum *Acetobacter aceti*, fermentasi alkohol dan fermentasi asam asetat. Prosedur penelitian dijelaskan pada subbab berikut.

a. Persiapan Bahan Baku

Dalam penelitian ini bahan baku yang digunakan adalah kulit nanas yang telah diambil sarinya. Setelah sari kulit nanas di dapat, sari kulit nanas di panaskan agar tidak terkonversi mikroorganisme yang terdapat pada sari kulit nanas tersebut, selain itu pemanasan berguna untuk mengurangi kadar air yang terdapat pada sari kulit nanas dan membuat konsentrasi gula pada sari nanas menjadi lebih tinggi. Pada penelitian ini, digunakan sari kulit nanas dengan konsentrasi 10%,20%, 30%.

b. Tahap Sterilisasi

Alat yang akan digunakan dalam pembuatan starter dan proses fermentasi harus disterilkan terlebih dahulu menggunakan *autoclave* selama 20 menit pada suhu 120 °C . Proses sterilisasi bertujuan untuk mencegah terjadinya

kontaminasi pada alat yang dapat mempengaruhi proses fermentasi.

c. Fermentasi Alkohol

Fermentasi tahap ini adalah proses fermentasi untuk mengubah glukosa menjadi etanol yang selanjutnya digunakan sebagai substrat untuk fermentasi asam asetat. Tahapan dalam penelitian ini yaitu penyiapan inokulum, pembuatan stater, proses fermentasi, proses pemisahan dan analisa produk.

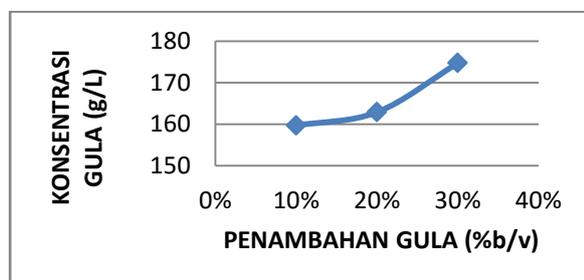
d. Fermentasi Asam Asetat

Fermentasi pada tahap ini merupakan proses fermentasi untuk mengubah bioetanol menjadi asam asetat. Tahapan dalam penelitian ini yaitu penyiapan inokulum, pembuatan stater, analisa TPC, proses fermentasi, proses pemisahan dan pemurnian dan analisa produk.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Pengaruh Konsentrasi Gula Terhadap Kadar Gula Awal

Bahan baku atau substrat yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak limbah kulit nanas dengan penambahan gula sebesar 10, 20 dan 30% dari volume awal (2000 ml). Konsentrasi gula awal ekstrak limbah kulit nanas dianalisis dengan metode Nelson-Samogyi, yaitu pengukuran nilai absorbansi menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang $\lambda = 540$ nm. Panjang gelombang maksimal yang diperoleh pada penelitian ini adalah sebesar 540 nm



Gambar 1. Pengaruh Besarnya Penambahan Gula Terhadap Konsentrasi Gula Awal Ekstrak Kulit Nanas

Pada Gambar 1. menunjukkan hubungan antara proses penambahan gula dengan nilai konsentrasi gula. Berdasarkan gambar dapat dilihat bahwa terjadi kenaikan konsentrasi gula ekstrak limbah kulit nanas dari penguapan 10% volume awal hingga penguapan 30% volume awal. Pada penguapan 10%, konsentrasi gula yang diperoleh yaitu sebesar 159,678 g/L. Pada penguapan 20%, konsentrasi gula yang diperoleh yaitu sebesar 162,892 g/L. Sedangkan pada penguapan 30%, nilai konsentrasi gula diperoleh lebih tinggi yaitu sebesar 174,678 g/L.

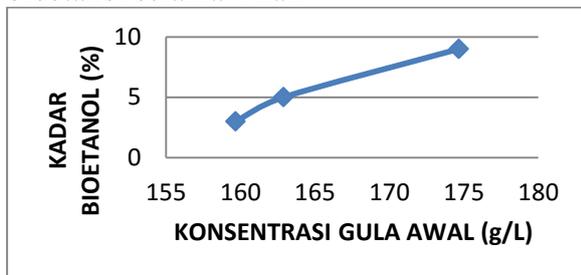
Berdasarkan data tersebut, dapat disimpulkan bahwa semakin besar penambahan gula maka akan semakin meningkatkan nilai konsentrasi gula limbah kulit nanas. Selain itu, proses penambahan gula bertujuan untuk mengurangi kadar air yang ada pada bahan baku limbah kulit nanas. Hal ini bertujuan untuk meningkatkan 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).

3.2 Pengaruh Konsentrasi Gula Awal Terhadap Konsentrasi Bioetanol Hasil Fermentasi

Penelitian ini menggunakan variasi konsentrasi gula dengan cara penambahan gula bahan baku sebesar 10%, 20%, dan 30% volume awal. Setelah diketahui konsentrasi gula pada setiap variasi penguapan bahan baku, maka dilakukan proses fermentasi bioetanol selama 4 hari. Menurut Hesty dan Matdoan (2015), waktu optimum pada proses fermentasi bioetanol adalah selama 4 hari karena mikroorganisme *Saccharomyces cerevicae* berada pada fase pertumbuhan logaritmik atau eksponensial. Hal ini mengakibatkan pada proses fermentasi anaerob gula dipecah oleh *Saccharomyces*

cerevicae sehingga terbentuk alkohol dan gas CO₂. Semakin lama waktu yang digunakan untuk proses fermentasi, maka akan semakin meningkatkan gas CO₂. Gas yang dihasilkan pada proses fermentasi dapat menghambat aktivasi dari *Saccharomyces cerevicae*, sehingga pertumbuhan dari *Saccharomyces cerevicae* akan terhenti dan kadar alkohol yang dihasilkan akan semakin menurun.

Pada penelitian ini, produk bioetanol hasil fermentasi dilakukan proses evaporasi menggunakan *rotary evaporator* untuk memisahkan bioetanol dengan produk hasil fermentasi lainnya. Konsentrasi bioetanol hasil evaporasi dianalisis menggunakan alat alkoholmeter. Hasil dari proses fermentasi bioetanol selama 4 hari

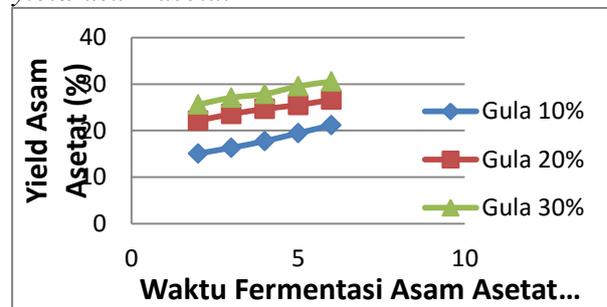


Gambar 2. Pengaruh Konsentrasi Gula Awal Terhadap Kadar Bioetanol Hasil Fermentasi

Berdasarkan Gambar 2. terlihat bahwa konsentrasi bioetanol yang dihasilkan semakin meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi gula awal bahan baku nira nipah. Konsentrasi bioetanol paling rendah adalah sebesar 3% dengan konsentrasi gula awal sebesar 159,678 g/L. Sedangkan bioetanol tertinggi dihasilkan sebesar 9% dengan konsentrasi gula awal sebesar 174,678 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 cerevicae* 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.

3.3 Pengaruh Konsentrasi Gula Awal dan Waktu Fermentasi terhadap Yield Asam Asetat Hasil Fermentasi

Setelah dilakukan proses fermentasi bioetanol, maka proses selanjutnya adalah fermentasi asam asetat untuk menghasilkan asam asetat. Fermentasi asam asetat dilakukan dengan variabel waktu 6 hari dengan bantuan bakteri *Acetobacter aceti*. Setelah proses fermentasi selesai, maka dilakukan analisis konsentrasi asam asetat menggunakan metode titrasi. Hasil fermentasi dititrasi menggunakan larutan standar NaOH. Hasil analisis konsentrasi dan yield asam asetat



Gambar 3. Pengaruh Konsentrasi Gula Awal Dan Waktu Fermentasi Terhadap Yield Asam Asetat

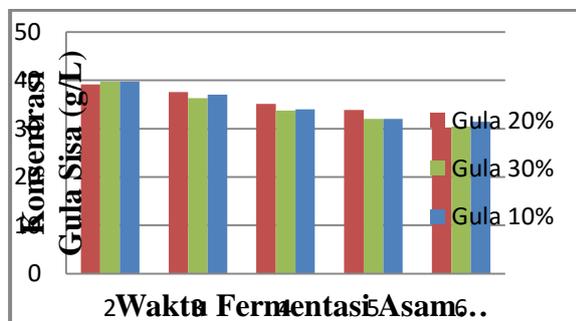
Pada Gambar 3 terlihat bahwa nilai yield asam asetat semakin meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi gula awal bahan baku kulit nanas. Selain itu, waktu fermentasi juga mempengaruhi nilai yield dari asam asetat. Semakin lama waktu fermentasi, maka yield asam asetat yang dihasilkan akan semakin meningkat. Nilai yield asam asetat paling rendah yaitu sebesar 15,098% pada konsentrasi gula awal 55,728 g/L dan waktu fermentasi selama 2 hari. Sedangkan nilai yield tertinggi yaitu sebesar 30,555% pada konsentrasi gula awal 89,624 g/L dan waktu fermentasi selama 6 hari.

Nilai yield asam asetat yang dihasilkan pada penelitian ini semakin meningkat seiring kenaikan konsentrasi gula awal. Hal ini terjadi karena dengan tingginya konsentrasi gula awal, maka semakin banyak bioetanol yang dihasilkan. Pada penelitian ini, kadar bioetanol tertinggi dihasilkan

sebesar 9% dengan konsentrasi gula awal sebesar 174,678 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 substrat untuk menghasilkan asam asetat dan gas CO₂ (Putra dkk, 2017).

3.4 Analisa Gula Sisa

Penentuan konsentrasi gula sisa bertujuan untuk mengetahui berapa banyak gula reduksi yang dimanfaatkan oleh mikroorganisme *Saccharomyces cerevicae*. Selain itu, pengukuran total gula pada awal fermentasi dan akhir fermentasi juga bertujuan untuk menentukan nilai efisiensi penggunaan substrat. Efisiensi ini menunjukkan seberapa banyak gula yang dapat dimanfaatkan oleh *Saccharomyces cerevicae* untuk diubah menjadi produk utama berupa bioetanol dan produk sampingan berupa karbon dioksida.



Gambar 4.4. Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Konsentrasi Gula Sisa Hasil Fermentasi Asam Asetat

Pada Gambar 4.4. menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap konsentrasi gula fermentasi, dimana dengan semakin lama waktu fermentasi maka konsentrasi gula semakin menurun. Penurunan konsentrasi gula selama proses fermentasi menunjukkan tingkat konsumsi glukosa oleh *Saccharomyces cerevicae*. Setiap perlakuan mengalami penurunan konsentrasi gula hingga akhir proses fermentasi, tetapi tidak terlalu signifikan. Hal ini karena 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*.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian mengenai fermentasi asam asetat menggunakan kulit nanas yang telah saya lakukan diperoleh kesimpulan bahwa kulit nanas dapat menghasilkan asam asetat melalui dua tahapan proses fermentasi, yaitu fermentasi bioetanol dan fermentasi asam asetat dengan konsentrasi tertinggi sebesar 35,581 g/L dan *yield* sebesar 30,555 %

Semakin tinggi konsentrasi gula awal yang digunakan pada proses fermentasi asam asetat, maka konsentrasi dan *yield* asam asetat yang dihasilkan juga semakin meningkat serta semakin lama waktu fermentasi yang dibutuhkan pada proses fermentasi asam asetat, maka konsentrasi dan *yield* asam asetat yang dihasilkan juga semakin meningkat. Waktu terbaik fermentasi asam asetat adalah pada hari ke-6 fermentasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuti, J., Yoza, D. dan Sulaeman R. (2016). Potensi Biomasa Nipah (*Nypa Fruticans* Wurmb.) Di Desa Lubuk Muda Kecamatan Siak Kecil Kabupaten Bengkalis. *JOM FAPERTA*. 1(3).
- Awaltanova, E., Bahri, S. dan Chairul. (2015). Fermentasi Nira Nipah Menjadi Bioethanol Menggunakan Teknik Immobilisasi Sel *Saccharomyces Cerevicae*. *JOM FTEKNIK*. 2(2): 1-7.
- BPS Indonesia. (2018). Data Impor Asam Asetat. <https://www.bps.go.id/>. 1 Agustus 2018.
- Cheryan, M. (2009). Acetic Acid Production. *Applied Microbiology: Industrial*. Urbana. 144-149.
- Fahmia, A.R. (2017). Pengaruh Konsentrasi Substrat Dan Inokulum Terhadap Produksi Ekspolisakarida Dari Tetes Tebu Oleh *Lactobacillus Plantarum* Dan Identifikasi Dengan FTIR. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Gorie, M.B.D. (2009). Pembuatan Cuka Apel Fuji (Malus Fuji) Menggunakan *Saccharomyces Cerevicae* Dan *Acetobacter Aceti*. *Skripsi*. Universitas Indonesia. Depok.
- Hardoyo, Tjahjono, A.E., Primarini, D., Hartono dan Musa. (2007). Kondisi Optimum Fermentasi Asam Asetat Menggunakan *Acetobacter Aceti* B166. *J.Sains MIPA*. 13(1): 17-20.
- Haumasse, M. (2009). Pemanfaatan Pulpa Kakao Untuk Memproduksi Asam Asetat Dengan Menggunakan Ragi Roti Dan Aerasi. *Tesis*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Leasa, H. dan Matdoan, M.N. (2015). Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Total Asam Cuka Nira Aren (*Arenga Pinnata* Merr.). *Biopendix*. 2(1): 135-140.
- Lin, Y. dan Tanaka, S. (2006). Ethanol Fermentation From Biomass Resources: Current State And Prospect. *Appl Microbial Biotechnol*. 69: 627-642.
- 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.
- Trinh, N.T., Masniyom, P. dan Maneesri, J. (2016). Optimization Of Culture Conditions For *Acetobacter Aceti* TISTR 102 In Coconut Water With Supplementary Banana Juice. *International Food Research Journal*. 23(3): 1300-1307.
- Nova.(2011). Pemanfaatan *Saccharomyces Cerevicae* Dalam Sistem Microbial Fuel Cell Untuk Produksi Energi Listrik. *Skripsi*. Universitas Indonesia. Depok.
- Wibowo, F., Chairul, dan Irdoni,S. (2015). Pengaruh Kecepatan Pengaduk Dan Waktu Fermentasi Terhadap Konsentrasi Bioetanol Pada Fermentasi Nira Nipah Kental Menggunakan *Saccharomyces Cerevicae*. *JOM FTEKNIK*. 1(2): 1-6.
- Yuanita, H., Chairul dan Peratenta, M. (2013). Fermentasi Nira Nipah Menjadi Bioetanol Menggunakan *Saccharomyces Cerevicae*. Universitas Riau. Pekanbaru.