KINETIKA FERMENTASI ASAM ASETAT (VINEGAR) OLEH BAKTERI *Acetobacter aceti* B $_{127}$ DARI ETANOL HASIL FERMENTASI LIMBAH CAIR PULP KAKAO

[Kinetics of Acetic Acid (Vinegar) Fermentation By *Acetobacter aceti* B_{127} from Ethanol Produced by Fermentation of Liquid Waste of Cacao Pulp]

M. Supli Effendi [1)]

[1)] Peneliti dan staf pengajar Fakultas Teknik Jurusan Teknologi Pangan Universitas Pasundan.

ABSTRACT

Acetic acid concentration is one of vinegar's quality parameter. Acetic acid concentration in vinegar is influenced by the activity of acetic acid bacteria. This research studied the kinetics of anaerobic fermentation of liquid waste of cacao pulp by Saccharomyces cerevisiae R_{60} to produce ethanol and the kinetics of acetic acid fermentation from ethanol by Acetobacter aceti B_{127}. The kinetics of acetic acid fermentation from ethanol by Acetobacter aceti B_{127} can be used as a basic of bioprocess design for aerobic fermentation in general and acetic acid fermentation from ethanol by Acetobacter aceti B_{127} in particular. Fermentation medium used was liquid waste of cocoa pulp with sugar content of 12.85%, and the addition of sucrosa and urea. The parameter observed was growth of Saccharomyces cerevisiae R_{60} and Acetobacter aceti B_{127}, and chemical analysis including concentration of ethanol, total sugar and acetic acid, content. The research result showed that the μ value was 0.048 hour^{-1}, $Y_{\frac{P}{S}}$ was 0.676, Qp value was 0.033 hour, and K_{La} value was 0.344, $Q_{O2}.Cx$ value was 0.125 ($mgO_2L^{-1}jam^{-1}$), $Y_{\frac{X}{O_2}}$ was 0.378 (x $10^8 selmL^{-1}g^{-1}O_2$), and $\frac{dCT}{dt}$ was 0.150 $mgL^{-1}hour^{-1}$. Concentration of acetic acid in the product was 4.24% or 42.4 gL^{-1}.

Key words : *Acetic acid – Cacao pulp.*

PENDAHULUAN

Vinegar atau dikenal cuka makan adalah cairan yang mengandung asam asetat, dibuat dari buah-buahan atau hasil pertanian lainnya melalui proses fermentasi bertingkat. Limbah cair pulp kakao dengan kadar gula 12 sampai 15 persen potensial untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku berbagai produk proses kimia industri melalui pendekatan bioteknologi (Effendi, 1995). Produksi asam asetat atau vinegar dilakukan melalui jalur :

I. pulp $\xrightarrow{S.cerevisiae}$ etanol

II. etanol $\xrightarrow{A.\ aceti}$ asam. Asetat

Proses ini merupakan salah satu usaha pemanfaatan dan sekaligus penanggulangan pencemaran lingkungan. Produk vinegar atau cuka makan secara tradisional di Indonesia, selain mengandung asam asetat juga asam organik lain dengan kadar total asam hanya sekitar 2 % (Kozaki et. al., 1998). Sementara dalam FAO/WHO (1982) ditentukan berbagai syarat produk vinegar antara lain harus mengandung asam asetat minimal 50 gL^{-1}. Semua mikroba memerlukan nutrien dasar tertentu seperti air, karbon, mineral, vitamin, dan oksigen jika kondisi aerob. Komposisi dan jenis sumber nutrien dasar dalam medium harus sesuai bagi setiap proses fermentasi sehingga diperoleh medium yang paling baik. Komposisi kimia alami dari limbah cair pulp kakao bukan merupakan komposisi medium optimal untuk *pertumbuhan Saccharomyces cerevisiae* R_{60} sehingga perlu dilakukan penambahan nutrien ke dalam limbah cair pulp kakao agar formulasi medium yang berbasis limbah cair pulp kakao menjadi optimum untuk pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* R_{60} dan produksi etanol. Substrat etanol dengan kadar 5% melalui fermentasi oleh berbagai bakteri *Acetobacter sp*, dapat menghasilkan asam asetat dengan konsentrasi maksimum.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kinetika fermentasi etanol menjadi asam asetat yang digunakan sebagai landasan rancang bangun bioreaktor skala industri, berdasarkan laju spesifik pertumbuhan bakteri *Acetobacter aceti* B_{127} (μ), laju spesifik penurunan substrat etanol (Qs), laju spesifik pembentukan asam asetat (Qp), dan laju pengambilan oksigen oleh sel mikroba (Q_{O2}.Cx).

METODOLOGI

Bahan dan Alat

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah sesuai bagi setiap proses fermentasi sehingga diperoleh medium yang paling baik. Komposisi kimia alami dari limbah cair pulp kakao yang diperoleh dari kebun kakao Perkebunan Panglejar P.T Perkebunan Nusantara VII, Rajamandala Cianjur, Jawa Barat. Kultur *Saccharomyces cerevisiae* R_{60} dan bakteri *Acetobacter aceti* B_{127} diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi dan Teknologi Fermentasi Jurusan Teknik Kimia ITB.

Peralatan yang digunakan adalah fermentor jenis Bioflo New Brunswick kapasitas 1.5 L dengan volume kerja 1 L, serta peralatan untuk analisis kimia dan mikrobiologis.

Metode

Tiga tahap percobaan telah dilaksanakan di laboratorium Teknologi Fermentasi Pusat Antar Universitas Institut Teknologi Bandung. Analisis yang berkaitan dengan ketiga percobaan dilakukan di laboratorium Teknologi Pangan Universitas Pasundan, Lembaga Kimia Nasional, dan laboratorium Teknologi Fermentasi Pusat Antar Universitas Institut Teknologi Bandung.

Percobaan tahap pertama mengkaji fermentasi anaerob medium berbasis limbah cair pulp kakao (LCPK) oleh *Saccharomyces cerevisiae* R_{60} dengan variasi penambahan urea dan sukrosa. Masing-masing medium yang dikaji adalah filtrat atau substrat yang ditambah suplementasi urea ($CO(NH_2)_2$ sebanyak 0 g L^{-1} (SN_O), 1,0 g L^{-1} (SN_1), dan 2,0 g L^{-1} (SN_2), dan juga ditambahkan sukrosa sesuai dengan kadar gula total yang terkandung dalam limbah cair pulp kakao sebesar 12.85 persen (KG_O) dan sukrosa dengan kadar gula total sampai 15 persen (KG_{15}). Sebagai kontrol tidak ditambahkan sukrosa. Variabel respons yang ditetapkan dilakukan perhitungan dengan persamaan kinetika fermentasi, yaitu persamaan pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* R_{60} (μ), *growth yield* (Y) berupa $Y_{\frac{x}{s}}$ dan $Y_{\frac{p}{s}}$, *product yield* (Q) berupa Q_P dan Q_S. Data dianalisis secara statistika berdasarkan rancangan acak lengkap dan uji BNT (Gomez dan Gomez, 1995). Data dinamik dipresentasikan dengan kurva dan kurva yang dihasilkan diuji dengan uji kesejajaran-keberimpitan pada taraf α = 0,05 (Draper dan Smith 1981). Berdasarkan evaluasi pembentukan etanol dan perhitungan kinetika, dapat ditentukan suplementasi urea dan kadar gula terbaik untuk dijadikan formula pembuatan etanol sebagai substrat untuk percobaan selanjutnya.

Percobaan tahap kedua mengkaji substrat etanol hasil fermentasi LCPK untuk dijadikan asam asetat (vinegar) dengan menggunakan *Acetobacter aceti* B_{127} konsentrasi 5 (I_1), 10 (I_2), dan 15% v/v (I_3), kecepatan aerasi 0.5 vvm, dan kecepatan pengadukan 200 rpm (P_1) dan 400 rpm (P_2). Terhadap variabel respons dilakukan analisis sama seperti percobaan pertama. Berdasarkan evaluasi produksi kadar asam asetat dan perhitungan efisiensinya dapat ditentukan konsentrasi inokulum *Acetobacter aceti* B_{127} dan kecepatan pengadukan yang terbaik untuk digunakan pada percobaan selanjutnya.

Percobaan tahap ketiga mengkaji substrat etanol hasil fermentasi LCPK untuk dijadikan asam asetat (vinegar) dengan konsentrasi inokulan *Acetobacter aceti* B_{127} 10 % v/v dengan transmitan 11.5 %, dan kecepatan pengadukan 400 rpm dengan variasi kecepatan aerasi 0.5, 1.0 dan 1.5 vvm. Percobaan ini untuk mengetahui kinetika produksi asam asetat dan dianalisis secara statistika berdasarkan rancangan acak lengkap dan uji BNT (Gomez dan Gomez, 1995). Data hasil percobaan adalah produksi kadar asam asetat (Cp), kecepatan spesifik pertumbuhan sel *Acetobacter aceti* B_{127} (μ), growth yield (Y) berupa $Y_{\frac{P}{S}}$ dan $Y_{\frac{P}{S}}$, kecepatan spesifik pembentukan produk (Q_P), kecepatan spesifik penurunan substrat etanol (Q_S), konstanta kecepatan pertumbuhan sel mikroba (k_x), konstanta kecepatan pembentukan produk pada fase pertumbuhan (k_{p1}) dan konstanta kecepatan pembentukan produk fase nonpertumbuhan (k_{p2}), serta persentase oksigen terlarut (C_L). Untuk menjelaskan hasil percobaan utama dengan kecepatan aerasi terbaik dan hubungan antara pertumbuhan sel *Acetobacter aceti* B_{127} versus oksigen terlarut (O_T) terhadap kadar asam asetat yang diproduksi (Cp), dilakukan perhitungan persamaan kinetika dengan parameter ($\frac{dCl}{dt}$), koefisien volume perpindahan oksigen (KLa), $Y_{\frac{x}{O_2}}$ dan $Q_{O_2}.C_X$ dan pengaruhnya pada ancang bangun bioreaktor.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis limbah cair pulp kakao.

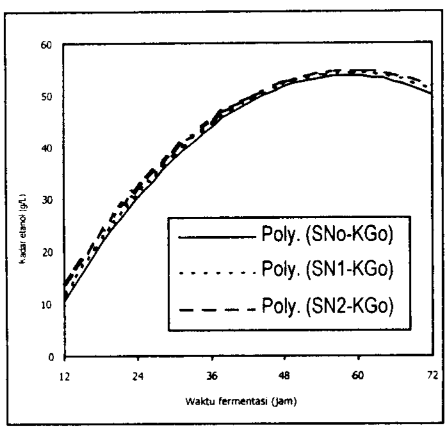
Hasil analisis kimia menunjukkan bahwa cairan pulp kakao mengandung gula total dengan kadar cukup tinggi, yaitu sekitar 12.85 persen, sehingga cukup potensial dijadikan sebagai substrat fermentasi etanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* R_{60}. Menurut Noyes (1980) serta Barlina dan Lay (1994), kadar gula yang digunakan dalam substrat fermentasi etanol 10 sampai 12 persen dapat menghasilkan etanol sebesar 5-6 persen.

Efek penambahan urea dan sukrosa kedalam medium berbasis limbah cair pulp kakao terhadap produksi etanol

Efek interaksi penambahan gula pada limbah cair pulp kakao dengan penambahan urea terhadap produksi etanol teruji nyata yang ternyata tidak bergantung pada waktu fermentasi walaupun efek masing-masing faktor bergantung pada waktu fermentasi. Semakin lama waktu fermentasi, dengan atau tanpa penambahan kadar gula dan tanpa atau dengan penambahan urea, terjadi peningkatan etanol secara sinergistik walaupun peningkatan itu pada waktu fermentasi yang satu dibandingkan dengan yang lainnya bersifat proporsional. Keadaan seperti dinyatakan di atas sebagaimana disimpulkan berdasarkan Gambar 1 dan Gambar 2, walaupun ternyata dengan suplementasi urea bervariasi, perbedaan kadar etanol yang diproduksi pada berbagai waktu fermentasi tidak teruji nyata (semua kurva berimpit), baik tanpa maupun dengan penambahan gula.

Kadar etanol maksimum yang dihasilkan rata-rata 53.3 gL^{-1}. Pembentukan produk etanol (Cp), pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae R₆₀* (Cx), dan penurunan kadar gula total (Cs) selama fermentasi ditunjukkan pada Gambar 3. Kenaikan kadar etanol dari medium limbah cair pulp kakao yang disebabkan oleh aktivitas mikroorganisme jenis kamir yang dominan pada awal fermentasi sangat memungkinkan untuk pertumbuhan kamir tersebut. Etanol yang dihasilkan selama fermentasi berasal dari perombakan gula dalam limbah cair pulp kakao. Menurut Noyes (1980) dan Kozaki et al., (1998), produk yang dihasilkan dari fermentasi, selain etanol dan gas CO_2, adalah asam asetat, asam butirat, asam laktat, asetaldehida, dan lain-lain. Hal tersebut di atas pula yang mengakibatkan bahwa pada suatu saat, semakin lama fermentasi, kadar etanol yang dihasilkan akan optimum dan akhirnya akan menurun. Untuk fermentasi pembentukan asam asetat dibutuhkan medium dengan kadar etanol 5 - 6%. Dari perhitungan kinetika pada fase eksponensial pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* R_{60} (Cx), pembentukan etanol (Cp), dan penurunan substrat gula dalam limbah cair pulp kakao (Cs), dapat ditentukan pembentukan etanol terbaik hasil fermentasi limbah cair pulp kakao oleh *Saccharomyces cerevisiae* R_{60} dengan urea: 0 gL^{-1}, 1 gL^{-1}, 2 gL^{-1}, dan tanpa atau dengan pertambahan sukrosa sampai kadar gulanya 15 %.

Dari pola kinetika pada fase eksponensial itu, didapat data yang terukur besaran kinetika fermentasi limbah cair pulp kakao seperti pada Tabel 1. Laju spesifik pertumbuhan mikroba (μ) berkurang akibat penambahan sukrosa dan lebih berkurang akibat pemberian urea dan berkurangnya pertumbuhan mikroba itu proporsional dengan angka terendah sebesar 0.032 mg $mg^{-1}jam^{-1}$ (kadar gula substrat 15% dan tambahan 2 gL^{-1} urea) dan tertinggi 0.043 mg $mg^{-1}jam^{-1}$ (tanpa tambahan sukrosa dan urea).



Keterangan :

G_0 = Tanpa penambahan sukrosa

SN_0 = tanpa urea
SN_1 = 1 gL^{-1} urea
SN_2 = 2 gL^{-1} urea

Keterangan :
Semua kurva berimpit (/) menurut uji kesejajaran-keberimpitan pada taraf nyata 0.05 sebagaimana diindikasikan dalam matriks perbandingan.

$$YSN_0\,KG_0 = -0.0202\,X^2 + 2.362\,X - 14.993 \quad (R^2 = 0.9566)$$

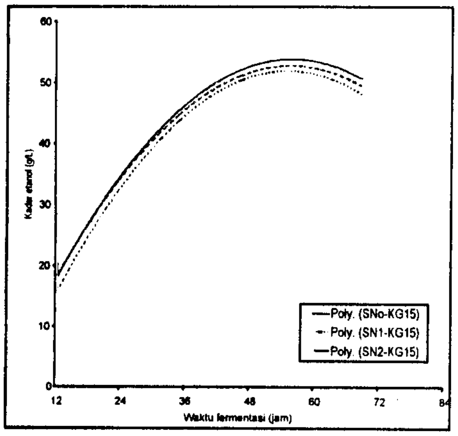
$$YSN_1KG_0 = -0.0194\,X^2 + 2.2856\,X - 12.633 \quad (R^2 = 0.9432)$$

$$YSN_2KG_0 = -0.0185\,X^2 + 2.1951\,X - 10.033 \quad (R^2 = 0.9368)$$

Matriks Perbandingan kurva

Y/Y	SN_1	SN_2
SN_0	/	/
SN_1	-	/

Gambar 1. Kadar etanol hasil fermentasi *Saccharomyces cerevisiae* R_{60} pada medium berbasis limbah cair pulp kakao dengan suplementasi urea tanpa penambahan sukrosa.



Keterangan :
KG_{15} = Penambahan sukrosa hingga 15%
SN_0 = tanpa urea
SN_1 = 1 gL^{-1} urea
SN_2 = 2 gL^{-1} urea

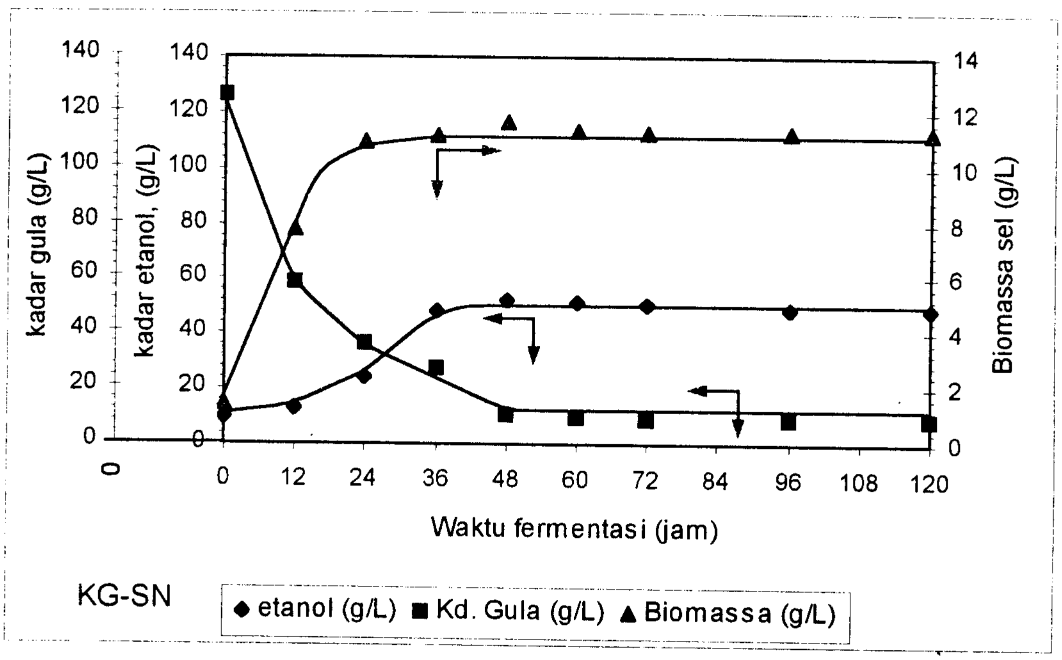
Keterangan :
Semua kurva berimpit (/) menurut uji kesejajaran-keberimpitan pada taraf nyata 0.05 sebagaimana diindikasikan dalam matriks perbandingan.

$YSN_0 KG_{15} = -0.0187 X^2 + 2.1454 X - 7.703$	($R^2 = 0.9818$)
$YSN_1 KG_{15} = -0.0173 X^2 + 2.0106 X - 3.520$	($R^2 = 0.9629$)
$YSN_2 KG_{15} = -0.0177 X^2 + 2.0658 X - 4.240$	($R^2 = 0.9405$)

Matriks Perbandingan kurva

Y/Y	SN_1	SN_2
SN_0	/	/
SN_1	-	/

Gambar 2. Kadar etanol hasil fermentasi *Saccharomyces cerevisiae* R_{60} medium berbasis limbah cair pulp kakao dengan suplementasi urea dan penambahan sukrosa hingga 15%.



Gambar 3. Pembentukan etanol, penurunan kadar gula, dan perubahan biomassa sel selama fermentasi etanol pada medium berbasis limbah cair pulp kakao dengan penambahan urea dan sukrosa.

Tabel 1. Parameter kinetika fermentasi limbah cair pulp kakao dengan penambahan urea dan sukrosa.

Parameter Kinetika	Tambahan gula Pada medium	Suplementasi Nutrisi (urea)		
		$0\ gL^{-1}$	$1\ gL^{-1}$	$2\ gL^{-1}$
μ (mg mg $^{-1}$jam $^{-1}$)	Tanpa tambahan gula (KG_0)	0.043 B b	0.041 B b	0.036 B a
	15% Kadar gula (KG_{15})	0.038 A b	0.038 A b	0.032 A a
$Y_{\frac{X}{S}}$	Tanpa tambahan gula (KG_0)	0.088 D c	0.099 D d	0.085 D c
	15% Kadar gula (KG_{15})	0.072 C c	0.082 C d	0.071 C c
$Y_{\frac{P}{S}}$	Tanpa tambahan gula (KG_0)	0.370 F c	0.376 F f	0.369 F e
	15% Kadar gula (KG_{15})	0.288 E f	0.295 E f	0.285 E e
Q_S (mg mg^{-1}jam^{-1})	Tanpa tambahan gula (KG_0)	0.489 G h	0.414 G h	0.424 G h
	15% Kadar gula (KG_{15})	0.528 G h	0.458 G h	0.450 G h
Q_P (mg mg^{-1}jam^{-1})	Tanpa tambahan gula (KG_0)	0.016 N m	0.015 N m	0.13 N m
	15% Kadar gula (KG_{15})	0.011 M m	0.011 M m	0.009 M m
Kadar etanol (gL^{-1})	Tanpa tambahan gula (KG_0)	52.5 K k	54.0 K k	53.0 K k
	15% Kadar gula (KG_{15})	53.0 K k	53.5 K k	54.0 K k

Keterangan : Angka-angka yang ditandai dengan huruf kecil yang sama ke arah horizontal dan dengan huruf besar yang sama ke arah vertikal untuk setiap parameter kinetika tidak berbeda menurut uji BNT α= 0.05.

Dari keseluruhan data yang diperoleh diketahui bahwa fermentasi etanol oleh *Saccharomyces cerevisiae* R_{60} yang paling baik adalah pada medium substrat limbah cair pulp kakao yang tidak ditambahkan sukrosa maupun urea yang menghasilkan produk sebesar 52.5 gL^{-1}. Walaupun demikian, parameter yang lain seperti $Y_{\frac{X}{S}}$, lebih rendah dibandingkan pada medium substrat limbah cair pulp kakao yang tidak atau ditambahkan sukrosa dan ditambahkan urea sebanyak 1 gL^{-1}. Hal itu disebabkan oleh faktor-faktor lingkungan, baik internal maupun eksternal. Faktor-faktor lingkungan yang mempengaruhi fermentasi etanol adalah suhu, pH, substrat, oksigen, kadar etanol, faktor pertumbuhan, dan nutrisi.

Limbah cair tanpa penambahan sukrosa dan urea menghasilkan produk etanol sebesar 52.5 gL^{-1} atau 5.25% dengan laju spesifik pertumbuhan (μ) sebesar 0.43 mg mg^{-1}jam^{-1} yang merupakan laju spesifik paling tinggi sehingga etanol yang dihasilkan dapat dipergunakan sebagai medium untuk percobaan berikutnya.

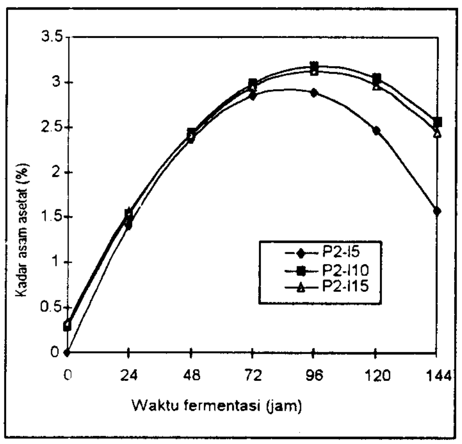
Efek konsentrasi *Acetobacter aceti* B_{127} dan kecepatan pengadukan pada fermentasi asam asetat dengan kecepatan aerasi 0.5 vvm

Kadar etanol substrat fermentasi untuk produksi asam asetat adalah kadar etanol hasil limbah cair pulp kakao yang telah difermentasi kamir, yaitu sebesar 5.0%. Pengamatan selanjutnya adalah proses fermentasi substrat etanol hasil fermentasi limbah cair pulp kakao menggunakan konsentrasi inokulum *Acetobacter aceti* B_{127} 5, 10 dan 15% v/v dengan pengadukan 200 dan 400 rpm terhadap pembentukan asam asetat(%), penurunan substrat etanol(%) dan efisiensi produk selama fermentasi. Efek interaksi penambahan konsentrasi inokulum *Acetobacter aceti* B_{127} pada substrat etanol hasil fermentasi limbah cair pulp kakao dengan kecepatan pengadukan selama fermentasi tak teruji nyata, walaupun efek masing-masing faktor bergantung pada waktu fermentasi. Selama fermentasi etanol hasil fermentasi limbah cair pulp kakao, pengaruh kecepatan pengadukan 200 dan 400 rpm umumnya menyebabkan peningkatan produksi asam asetat dan umumnya peningkatan tersebut akibat penambahan konsentrasi inokulum *Acetobacter aceti* B_{127}, walaupun pada penambahan konsentrasi inokulum *Acetobacter aceti*

B_{127} yang lebih tinggi lagi terjadi penurunan produksi asam asetat (Gambar 4 dan Gambar 5). Hasil terbaik diperoleh dengan kecepatan pengadukan 400 rpm dengan penambahan inokulum sebanyak 10% v/v yang menghasilkan 4.01 % asam asetat. Hasil tersebut lebih baik dibandingkan proses pembuatan asam asetat yang di survey oleh Kozaki et al., (1998) secara tradisional di Indonesia dan Philipina yang menghasilkan sekitar 2 % asam asetat.

Efisiensi selama fermentasi dengan kecepatan pengadukan 400 rpm lebih tinggi dibandingkan dengan kecepatan pengadukan 200 rpm, tetapi pada pemberian starter 10 % v/v lebih tinggi dibandingkan dengan 5% v/v dan 15 % v/v. Hal ini disebabkan oleh *over oxidation* yaitu perubahan asam asetat menjadi CO_2 dan H_2O, yang disebabkan oleh habisnya substrat dalam medium, sedangkan fermentasi berlangsung terus (Ebner, dan Follman, 1983).

Ternyata efisiensi produksi asam asetat relatif rendah, yaitu berkisar antara 55.88% sampai 71.20% dibandingkan dengan secara teoritis. Umumnya secara teoritis efisiensi produk asam asetat dari vinegar berkisar antara 85 – 99% dan sisanya terbawa udara keluar. Dari asumsi tersebut berarti seluruh etanol dalam substrat diubah menjadi asam asetat. Pada kenyataannya, tidak mungkin semua etanol dalam substrat dapat diubah menjadi asam asetat sebab etanol juga digunakan oleh bakteri sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan atau perbanyakan sel. Dari data-data produksi asam asetat, penurunan kadar etanol dan efisiensi produk asam asetat, untuk percobaan selanjutnya digunakan kecepatan pengadukan 400 rpm dengan pemberian inokulum sejumlah 10% v/v.

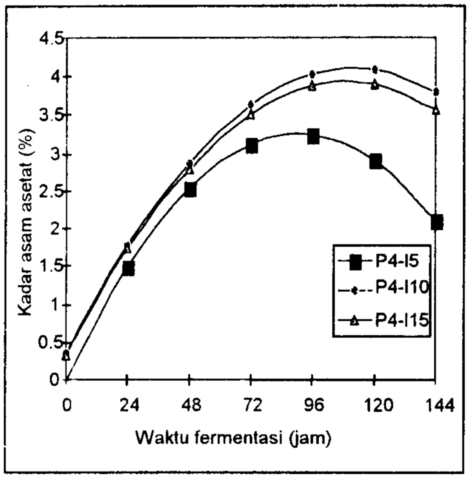


Keterangan :
P_2 =Pengadukan 200 rpm
Penambahan Inokulum: I_5 = 5 % v/v
I_{10} = 10 % v/v
I_{15} = 15 % v/v
Semua kurva berimpit (/) menurut uji kesejajaran-keberimpitan pada taraf nyata 0.05 sebagaimana diindikasikan dalam matriks perbandingan.

Matriks Perbandingan kurva

	Y/Y	I_{10}	I_{15}
$YP_2 - I_5 = -0.0004X^2 + 0.0686X - 0.0069$ ($R^2 = 0.8621$)			
$YP_2 - I_{10} = -0.0003X^2 + 0.0590X + 0.2839$ ($R^2 = 0.9459$)	I_5	/	/
$YP_2 - I_{15} = -0.0003X^2 + 0.0579X + 0.3344$ ($R^2 = 0.9665$)	I_{10}	-	/

Gambar 4. Kadar asam asetat hasil fermentasi *Acetobacter aceti* B_{127} (5, 10, 15 %) pada kecepatan pengadukan 200 rpm



Keterangan:

P_4 = Pengadukan 400 rpm
Penambahan Inokulum: I_5 = 5 % v/v
I_{10} = 10 % v/v
I_{15} = 15 % v/v

Semua kurva berimpit (/) menurut uji kesejajaran-keberimpitan pada taraf nyata 0.05 sebagaimana diindikasikan dalam matriks perbandingan.

	Matriks Perbandingan kurva		
$YP_4\text{-}I_5$ = - 0.0004 X^2 + 0.0723 X – 0.0115 (R^2= 0.8589)	Y/Y	I_{10}	I_{15}
$YP_4\text{-}I_{10}$ = -0.0003 X^2 + 0.0672 X + 0.3438(R^2 = 0.9577)	I_5	/	/
$YP_4\text{-}I_{15}$ = -0.0003 X^2 + 0.0657 X + 0.3292(R^2 = 0.944)	I_{10}	-	/

Gambar 5. Kadar asam asetat hasil fermentasi *Acetobacter aceti* B_{127} (5, 10, 15%) pada kecepatan pengadukan 400 rpm

Kinetika produksi asam asetat oleh *Acetobacter aceti* B_{127} dengan konsentrasi 10% v/v diaduk dengan kecepatan 400 rpm dan diaerasi dengan berbagai kecepatan

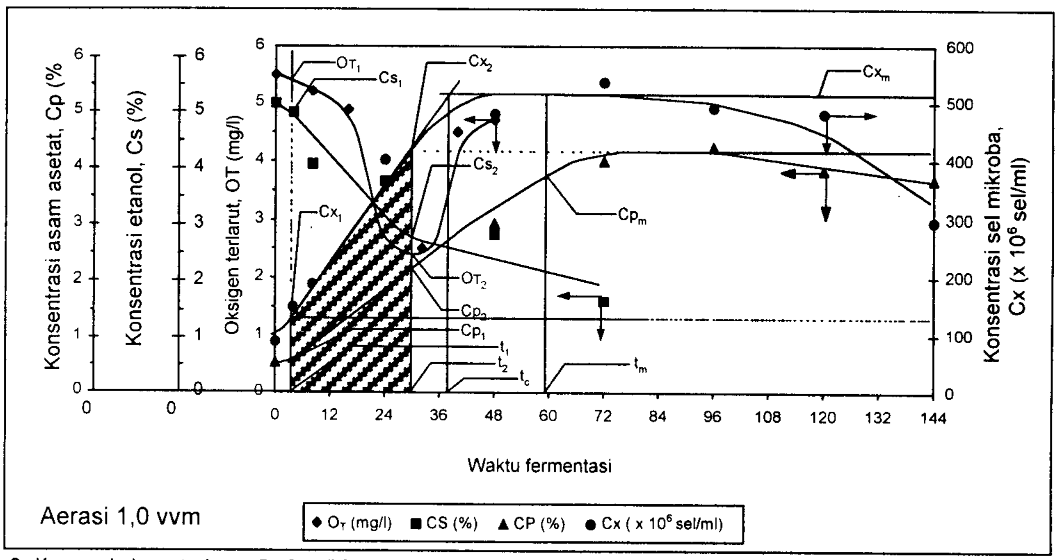
Untuk mendapatkan hasil yang optimal, maka fermentasi dilakukan pengaturan kondisi operasi fermentasi asam asetat dari limbah cair pulp kakao oleh *Acetobacter aceti* B_{127} dan diamati berdasarkan perhitungan kinetika μ, $Y_{\frac{x}{s}}$, $Y_{\frac{x}{s}}$, Q_S, Q_P, k_X, k_{P1}, dan k_{P2} pada berbagai kecepatan aerasi terhadap pembentukan produk asam asetat dan pertumbuhan sel *Acetobacter aceti* B_{127}.

Pola kinetika hubungan antara pertumbuhan sel *Acetobacter aceti* B_{127} dengan produk asam asetat yang terbentuk selama proses fermentasi dengan perhitungan kinetika pada fase eksponensial, digambarkan dalam bentuk kurva seperti Gambar 6, dan didapatkan data-data parameter kinetika seperti pada Tabel 2. Ternyata hubungan kadar sel mikroba dengan kadar produk fermentasi pada beberapa fase menunjukkan bahwa pada fase penyesuaian sel *Acetobacter aceti* B_{127} terbentuk produk asam asetat dalam jumlah yang sedikit, dan sesudah sel *Acetobacter aceti* B_{127} melewati fase penyesuaian terjadi kenaikan pembentukan produk asam asetat. Kemudian sel *Acetobacter aceti* B_{127} tumbuh sampai mencapai kadar sel maksimal. Pada fermentasi jam ke 72, kadar asam total yang dihasilkan dengan aerasi 0.5 vvm sebesar 3.75%, 1.0 vvm sebesar 4.24%, dan 1.5 vvm sebesar 3.23%. Dari data-data yang terukur besaran kinetika fermentasi etanol menjadi asam asetat ternyata kecepatan aerasi 1.0 vvm mempunyai keunggulan terhadap pembentukan asam asetat setelah diuji statistik dengan uji BNT α = 0.05 seperti pada Tabel 2, dibandingkan dengan kecepatan aerasi 0.5 vvm dan 1.5 vvm. Perhitungan parameter kinetika kecepatan pertumbuhan sel *Acetobacter aceti* B_{127} dengan konsentrasi oksigen terlarut pada kecepatan aerasi 1 vvm pada fase eksponensial ditunjukkan pada Gambar 6. Pada waktu konsentrasi oksigen terlarut turun berarti tg α = Q_{O_2} . Cx, dengan nilai $\left(\frac{dCl}{dt}\right)$ yang diperoleh pada kondisi oksigen terlarut menaik kembali.

Tabel 2. Parameter kinetika produksi asam asetat dari etanol hasil fermentasi limbah cair pulp kakao oleh Acetobacter aceti B_{127} pada berbagai kecepatan aerasi.

Parameter kinetika	Kecepatan Aerasi		
	0.5(vvm)	1.0(vvm)	1.5(vvm)
μ (jam^{-1})	0.047 b	0.048 b	0.036 a
$Y_{\frac{X}{S}} \left[\frac{(10^8 selmL^{-1})}{gL^{-1}}\right]$	*0.073 c*	*0.115 d*	*0.097 d*
$Y_{\frac{P}{S}}\ Y_{\frac{P}{S}} \left[\frac{(10^8 selmL^{-1})}{gL^{-1}}\right]$	*0.24 e*	*0.676 f*	*0.317 f*
$Q_S \left[\frac{(gL^{-1})(jam^{-1})}{10^8 selmL^{-1}}\right]$	*0.644 h*	*0.418 h*	*0.371 g*
Q_P *Jam*$^{-1}$	*0.011 i*	*0.033 j*	*0.011 l*
$k_X \left[(selmL^{-1})(jam^{-1})\right]$	*0.037 k*	*0.033 k*	*0.036 k*
$K_{P2} \left[\frac{(gL^{-1})(jam^{-1})}{10^8 selmL^{-1}}\right]$	*1.83 n*	*0.458 m*	*1.33 n*
$K_{P1} \left[\frac{(gL^{-1})(jam^{-1})}{10^8 selmL^{-1}}\right]$	*0.157 o*	*0.226 p*	*0.163 o*
Asam asetat (gL^{-1})	*37.5 r*	*42.4 r*	*32.3 q*

Keterangan : Angka-angka yang ditandai dengan huruf kecil yang sama ke arah horizontal tidak berbeda menurut uji BNT α = 0.05.



Gambar 6. Kurva oksigen terlarut O_T [mg/L] dengan kecepatan aerasi 1.0 vvm, dengan kondisi pH awal 4, suhu 30°C, kecepatan pengadukan 400 rpm dan konsentrasi inokulum 10 % v/v.

Tabel 3. Parameter kinetika produksi asam asetat oleh *Acetobacter aceti* B_{127} dengan kecepatan aerasi 1.0 vvm.

No.	Parameter kinetika	Kecepatan aerasi 1.0 vvm
1	$Q_{O2}Cx\ (mgO_2L^{-1}jam^{-1})$	0.125
2	$\frac{dCl}{dt}\ (mgL^{-1}jam^{-1})$	0.150
3	K_{La}	0.344
4	$Y_{\frac{x}{O_2}}\ (10^8\ selmL^{-1}\ g^{-1}\ O_2)$	0.378
5	$Q_S\left[\frac{(gL^{-1})(jam^{-1})}{10^8 selmL^{-1}}\right]$	0.418
6	$Q_P\left[\frac{(gL^{-1})(jam^{-1})}{10^8 selmL^{-1}}\right]$	0.033
7	Asam asetat (%)	4.24

Nilai $Q_{O2}.Cx$ diperoleh pada saat oksigen terlarut menurun drastis karena di konsumsi oleh *Acetobacter aceti* B_{127}, kemudian konsentrasi oksigen terlarut meningkat kembali karena aerasi terus berlangsung sampai dicapai konsentrasi oksigen terlarut jenuh. Nilai $\left(\frac{dCl}{dt}\right)$ diperoleh pada kondisi oksigen terlarut. Perhitungan parameter kinetika fermentasi pada aerasi 1.0 vvm didapatkan nilai-nilai Q_{O2}. Cx, $\left(\frac{dCl}{dt}\right)$, Q_{O2}. Cx $+\left(\frac{dCl}{dt}\right)$, K_{La} dan $Y_{\frac{X}{O_2}}$ seperti disajikan pada Tabel 3. Dari hasil perhitungan tersebut diambil kesimpulan bahwa perpindahan oksigen akan mempengaruhi rancang bangun bioreaktor.

Rancang Bangun Bioreaktor

Rancang bangun alat fermentor untuk fermentasi etanol hasil fermentasi limbah cair pulp kakao oleh *Acetobacter aceti* B_{127} menjadi asam asetat yang dilengkapi dengan alat pengendali suhu, nilai pH, aerasi dan kecepatan pengadukan dibuat berdasarkan perbesaran dari skala laboratorium ke skala niaga.

Variabel kimia yang dikendalikan dan diukur yaitu konsentrasi substrat etanol hasil fermentasi limbah cair pulp kakao (Cs), konsentrasi oksigen terlarut (C_L), nilai pH, disamping kekentalan substrat (η), konsentrasi sel mikroba *Acetobacter aceti* B_{127} (Cx), dan konsentrasi produk asam asetat (Cp) yang diukur. Variabel fisika yang dikendalikan dan diukur yaitu tekanan, kecepatan alir udara (vvm), tinggi permukaan media fermentor, kecepatan pengadukan (rpm), busa dan tenaga pengerak pengaduk. Dari komponen-komponen tersebut dapat dihitung kecepatan pengambilan oksigen oleh *Acetobacter aceti* B_{127} (Q_{O2}. Cx), kecepatan penurunan substrat (Q_S), koefisien volume perpindahan oksigen (K_{La}), kecepatan spesifik pertumbuhan mikroba (μ), dan kecepatan spesifik pembentukan produk asam asetat. Hasil perhitungan perbesaran skala laboratoriun ke skala niaga ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil perhitungan rancang bangun skala pilot plant dengan kapasitas 1000 L

No.	Komposisi Parameter	Bioreaktor	
		Skala Laboratorium, 1 L	Skala pilot plant, 1000L
1.	Tinggi bioreaktor (H_f), cm	19,9	194.40
2.	Diameter (D_t), cm	9,85	96.20
3.	Tinggi substrat (H_m),cm	14	136.70
4.	Diameter impeller (D_i), cm	4.6	44.90
5.	Tinggi impeller (L_i), cm	1.5	14.60
6.	Lebar impeller (W_i), cm	1.0	9.70
7.	Jarak dari dasar (H_i), cm	2.0	19.54
8.	Kecepatan pengadukan, rpm	400	87.00
9.	K_La, menit^{-1}	0,422	0,422
10.	Volume substrat (V_L), Liter	1	*1000*

KESIMPULAN

Fermentasi substrat limbah cair pulp kakao dengan kadar gula 12.63 % baik tanpa maupun dengan penambahan urea oleh *Saccharomyces cerevisiae* R_{60} dengan konsentrasi inokulum 10 % v/v, suhu 30°C, waktu fermentasi selama 48 jam tanpa maupun dengan penambahan sukrosa dihasilkan kadar etanol rata-rata 5.3 %. Untuk menghasilkan kadar etanol sebesar 5.0 % sampai 6.0% diperlukan waktu fermentasi antara 48 sampai 50 jam. Pada fase eksponensial fermentasi limbah cair pulp kakao oleh *Saccharomyces cerevisiae* R_{60} dihasilkan laju spesifik pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* B_{60} (μ) tanpa tambahan gula adalah 0,043 jam^{-1}, lebih tinggi dibandingkan dengan penambahan gula yaitu 0.041 dan 0.036 jam^{-1}.

Pada fermentasi etanol hasil fermentasi limbah cair pulp kakao oleh *Acetobacter aceti* B_{127} dengan kondisi suhu 30°C, nilai pH awal 4, konsentrasi etanol 5,0 % v/v , inokulum 10 % v/v, diperoleh kecepatan pengadukan terbaik adalah 400 rpm dengan hasil asam asetat 4,24% dengan efisiensi 71,20%.

Berdasarkan kinetika produksi asam asetat dari etanol hasil fermentasi limbah cair pulp kakao oleh *Acetobacter aceti* B_{127} dengan kecepatan aerasi 1.0 vvm sebesar 4.24% lebih tinggi dibandingkan dengan kecepatan aerasi 0.5 vvm dan 1.5 vvm.

Hasil terbaik untuk produksi asam asetat diperoleh dengan kecepatan aerasi 1.0 vvm, dengan dasar formula oksigen terlarut yang masuk (C_i) pada waktu t_1 dan oksigen terlarut yang keluar (C_l) pada waktu t_2 didapatkan nilai kecepatan pengambilan oksigen ($Q_{O_2}.C_x$) sebesar 0,125 $mgO_2L^{-1}jam^{-1}$, nilai K_{La} atau kofisien volum perpindahan oksigen (jam^{-1}) 0.344 jam^{-1}, dan dengan dasar formula, $\frac{dCl}{dt}$ $Q_{O_2}.C_x$, K_{La}, (C_i) dan (C_l) didapatkan nilai $Y_{\frac{X}{O_2}}$ sebesar 0.378 (x 10^8 sel $mL^{-1}g^{-1}O_2$) yang berpengaruh terhadap rancang bangun bioreaktor.

Pembesaran skala laboratorium dari volume 1 L menjadi skala pilot plant atau niaga dengan volume 1000 L, harus memperhatikan faktor-faktor berat jenis bahan yang merupakan data untuk menghitung volume, jari-jari diameter, tinggi bioreaktor (H_f), diameter (Dt), tinggi substrat (Hm), diameter impeller (Li), lebar impeller (Wi), jarak dari dasar (Hi), kecepatan pengadukan (rpm), kofisien volum perpindahan oksigen (K_{La}) dan melalui program Delphi 5 dapat ditentukan ukuran pembesaran dari skala laboratorium ke skala industri.

DAFTAR PUSTAKA

Barlina, R., dan A. Lay 1994. Pengolahan Nira Kelapa untuk Produk Fermentasi Nata de Coco, Alkohol dan Asam Cuka. Jurnal Penelitian Kelapa 7: 21-23.

Draper, N., and H. Smith 1981. Applied Regression Analysis. 2nd ed. John Wiley & Sons, Singapore.

Ebner, H., and H. Follman 1983. Acetic Acid Biotechnology. Vol.3. The Avi Publishing Company, Inc., Wesport, CT.

FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization /Codex Alimentarius Commision) 1982, Draft European Regional Standard for Vinegar. Appendix II.

Gomez, K.A., dan A.A Gomez 1995. Prosedur Statistik untuk Penelitian Pertanian. Penterjemah Endang Sjamsudin dan S.B. Justika. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.