

**Waktu Fermentasi Asam Asetat oleh Isolat *Acetobacter aceti* dalam Substrat
Produk Residu *Gracilaria sp***

***Acetic Acid Fermentation Time by Acetobacter aceti Isolate in Gracilaria sp
Residual Product Substrate***

Aulia ilfathoniyah^{1 *)}, Ahmad Syauqi^{2 **)}, Majida Ramadhan³

¹ Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Malang, Indonesia

ABSTRAK

Pemanfaatan limbah tumbuhan jenis makro alga diupayakan maksimal untuk mengurangi pengaruh buruk bagi lingkungan. Kandungan serat kasar spesies *Gracilaria sp* dari limbah hasil sortir kebutuhan pada segmen industri dapat ditingkatkan nilainya. Bentuk konservasi lingkungan untuk limbah *Gracilaria sp* adalah pemanfaatan sebagai bahan organik dan perlu pengolahan yaitu substrat aktivitas fermentatif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui residu tumbuhan dari limbah makro alga *Gracilaria sp* dapat diolah menjadi asam asetat dan mempelajari lama variasi waktu lama fermentasi asam asetat dalam substrat produk residu tumbuhan dengan menggunakan isolat sel bakteri *Acetobacter aceti*. Penelitian ini menggunakan metode deskriptif kuantitatif untuk mengukur hasil proses fermentasi yaitu kadar asam asetat. Proses fermentasi dilakukan dengan variasi waktu yang berbeda yaitu 7,10 dan 13 hari. Konsentrasi inokulum *Acetobacter aceti* yang digunakan dalam penelitian ini adalah 9%. Analisis kimia menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis untuk etanol dan gula, penentuan asam asetat dengan metode titrasi, dan uji pH. Produk residu limbah makro alga *Gracilaria sp* dapat diolah menjadi asam asetat dengan tahapan fermentasi etanol menggunakan ragi roti *Saccharomyces cerevisia*. Kadar asam asetat hasil fermentasi sel *A. aceti* pada hari ke 13 mempunyai kadar asam asetat 5,11% alkohol 0,71% gula 0,056% .

Kata kunci: Asam asetat, Fermentasi, Residu Tumbuhan

ABSTRACT

Utilizing macroalgae plant waste is maximized to reduce the negative impact on the environment. The crude fibre content in *Gracilaria sp* species as waste from the sortation results of the industrial segment needs can be increased the its value. Environmental conservation form for *Gracilaria sp* waste is usefull as organic matter and processing needs namely substrate in fermentative activity. This study aims to determine whether plant residues from macroalgae waste *Gracilaria sp* can be processed into acetic acid and to study variations in the duration of acetic acid fermentation in substrates from plant residual products using *Acetobacter aceti* cell isolates. This study used a quantitative descriptive method to measure the results of the fermentation process of the acetic acid content. The fermentation process was performed at different time variations of 7.10 and 13 days. *Acetobacter aceti* inoculum concentration used in this study was 9%. The chemical analysis for determining alcohol content and sugar using UV-Vis spectrophotometry technique, acetic acid with the titration method, and pH testing. The residual product of macroalgae *Gracilaria sp* waste can be processed into acetic acid and ethanol fermentation using *Saccharomyces cerevisia* yeast. The yield from the fermentation of *Acetobacter aceti* cells on day 13 had an acetic acid content of 5.11%, alcohol of 0.71% and sugar of 0.056%.

Keywords: Acetic Acid, Fermentation, Plant Residues.

*) Aulia Ilfathoniyah, Program Studi Biologi FMIPA UNISMA, Jln. MT Haryono 193, Malang 65144,
Telp.085856181057 and e-mail: aulia.ilfathoniyah38@gmail.com

**) Ir. Ahmad Syauqi, M.Si, Program Studi Biologi FMIPA UNISMA, Jln. MT Haryono 193, Malang 65144.
Telp.08972419402 and E-mail: Syauqi.fmipa@unisma.ac.id

Digital Object Identifier : 10.33474/j.sa.v7i2.18824

Pendahuluan

Asam cuka dapat dibuat dengan cara kimia dan mikrobiologis atau diistilahkan bio-asam asetat, seperti halnya bio-etanol. Dalam skala industri metode yang digunakan dalam pembuatan asam asetat adalah metode karbonilasi metanol. Secara teknis asam asetat dari 65% kapasitas global industri dikerjakan karbonilasi metanol [1]. Terdapat kekhawatiran cara sintesis tersebut adalah tidak baik untuk Kesehatan. Pembuatan dengan mekanisme biologis yaitu fermentasi dan sekaligus dapat ditujukan untuk konservasi lingkungan.

Cara mikrobiologis terjadi proses dekomposisi zat menjadi senyawa sederhana dan saat menggunakan kondisi tanpa udara (anaerobik), sel memperoleh energi [2]. Asam asetat didapatkan dari substrat yang memiliki kandungan C_2H_5OH (etanol), dapat diperoleh dari fermentasi molekul glukosa, atau melalui proses aktivitas biologis menggunakan mikroorganisme. Bakteri genus *Acetobacter* adalah menggunakan enzim intraselular dan secara aerobik dengan mekanisme cara oksidasi. Jenis polisakarida hidrokoloid merupakan penyusun dinding sel dan bahan pengisi ruang antara sel. Diantaranya yang bernilai komersil adalah karagenan dan agar-agar. Pada rumput laut hijau lebih banyak ditemukan polisakarida xilan dan ulvan.

Serat kasar *Gracilaria sp* [3] merupakan susunan selulosa, hemiselulosa dan lignin dan seperti pada organisme tumbuhan lainnya. Kadar lignin pada rumput laut umumnya lebih rendah dari tanaman yang mengandung kayu. Hal ini memberikan peluang pengembangan biomassa rumput laut sebagai bahan baku pakan dan bioenergi yang lebih mudah dikonversi seperti halnya pembuatan asam asetat. rumput laut tersebut juga kaya polisakarida khususnya selulosa dan hemiselulosa dengan kandungan lignin yang rendah sehingga berpotensi untuk dikembangkan. Diduga kaya dengan asam lemak dan asam amino esensial yang penting bagi pertumbuhan jika dibandingkan dengan tanaman darat. Residu tumbuhan berkaitan dengan konservasi lingkungan, dalam hal ini usaha *reduce* limbah organik yang mengandung serat memerlukan pengolahan dengan cara aktivitas fermentatif; pemanfaatan hidrolisat dari serat Perlu adanya penelitian yang membahas tentang pembuatan asam asetat dari produk residu tumbuhan ini sebab dinding sel organisme tumbuhan berpotensi menghasilkan gula yang dimaksudkan untuk fermentasi etanol. Salah satu yang melatar belakangi penelitian ini adalah banyaknya limbah *Gracilaria sp.* sebagai hasil sortir material kebutuhan industri. Secara umum serat *Gracilaria sp.*, yaitu jenis makro alga. Maka penelitian penelitian mempunyai tujuan mempelajari waktu fermentasi asam Asetat oleh bakteri *Acetobacter aceti* dalam substrat produk residu *Gracilaria sp.*

Material dan Metode

Bahan dan Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian adalah tabung reaksi, pipet, inkubator, jarum ose, buret, termometer, neraca analitik, timbangan, hot plate, pH meter sensor as218, spektrofotometri UV-VIS merk Drawell, evaporator, gelas beker, autoklaf, laminar air flow, gunting, botol aqua, gelas ukur, selang, panci, kompor listrik, alat ukur suhu air, blender, seperangkat alat distilasi.

Bahan yang digunakan pada penelitian adalah hasil sortir dari panen *Gracilaria sp*, aquades, media *nutrient broth* (NB), ragi roti kemasan dari toko dengan merk tertentu, alkohol 78% merk Onemed, Etanol 98% merk Elang, kertas saring, spiritus, kertas label, kertas wrap, kertas aluminium foil, indikator pp, biakan murni isolat *Acetobacter acer* dari Lab. Mikrobiologi Univ. Brawijaya, kasa, karet galang.

Metode

Penelitian ini menggunakan menggunakan metode deskriptif kuantitatif [4] yaitu menggunakan deskripsi, perhitungan matematika (aritmetika rerata) dan teknik yang digunakan sebagai pengujian kadar zat. Penelitian ini dilakukan untuk mengukur hasil proses fermentasi yaitu kadar asam asetat yang dihasilkan dari produk residu *Gracilaria sp.*

Cara Kerja

Preparasi Sampel : Sampel berbahan dasar limbah dari *Gracilaria sp* diambil dari kabupaten Probolinggo. Limbah yang didapatkan disortir dan direndam untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada rumput

laut tersebut. Setelah melalui proses perendaman selama 12 jam, sampel dikeringkan dengan cara dijemur dibawah terik matahari selama 4 hari dan dipastikan benar benar kering digunakan sebagai stok untuk penelitian. Proses perendaman selama 12 jam diulang sebelum digunakan untuk menghasilkan material produk hidrolisis residu *Gracilaria sp.*

Pembentukan Alkohol: Produk hidrolisis *Gracilaria sp* (hidrolisat) di masukan ke dalam alat fermentor sederhana yang terbuat dari botol air mineral yang disambungkan dengan selang diatas tutupnya. Limbah dituangkan ke dalam botol dengan kondisi aseptik kemudian ditambahkan dengan ragi roti sebagai penghasil *Saccharomyces cerevisiae* sebanyak 3 g dalam 150 ml sampel. Selanjutnya botol ditutup rapat dan sambungkan selang dengan gelas yang berisi alkohol 70%. Disediakan panci besar yang telah dipanaskan dengan pemanas listrik yang dirangkai dengan pengatur suhu 34-35 °C. Fermentasi dilakukan selama 10 hari. Tahap distilasi penentuan konsentrasi etil alkohol (etanol) dilakukan untuk mengambil destilat alkohol menggunakan evaporator selama 6 jam dalam suhu 78-80 °C. Selanjutnya media hasil fermentasi lainnya dipersiapkan untuk fermentasi asam asetat.

Pembuatan Media Cair : 2,6 g media NB dilarutkan ke dalam aquades panas sebanyak 200 ml. Setelah tercampur disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit dalam suhu 121°C

Pembuatan Inokulum : Produk Media yang telah disterilkan kemudian biakan *Acetobacter aceti* diinokulasi kedalam media 10 ml NB yang ditambahkan NaCl 0,5% dan pH 7,2 [5] dan diambil sebanyak 9 ose. Setelah itu diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37 °C dalam inkubator. 10 ml media yang telah berisi *Acetobacter aceti* dimasukan kedalam 200ml akuades dan dinkubasi selama 48 jam pada suhu 37 °C.

Fermentasi Asam Asetat : Pada proses fermentasi dibutuhkan inokulum *Acetobacter Aceti* yaitu 9 % dari inokulum tersebut Sampel yang telah dihasilkan dari pembentukan (fermentasi) alkohol yang mengandung etanol antara 5-12%, dimasukan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan masing masing inokulum sebanyak 9 % dilakukan selama 7, 10 dan 13 hari 37-39°C.

Analisis Kadar Gula: Analisis kadar gula menggunakan Spektrofotometer dengan metode Nelson-Somogy. Menimbang 1 g sampel kemudian dilarutkan dengan 100 ml aquades dan diencerkan. Sampel disaring kemudian diambil 1 ml sampel dan 1 ml reagen nelson dalam tabung reaksi. Dipanaskan dalam waterbath selama 20 menit. Didinginkan sampai suhu tabung 25 °C kemudian menambahkan arseno molybdat sebanyak 1 ml, 7 ml aquades dan divortex. Setelah itu dihitung pada panjang gelombang 546 nm dengan alat spektrometer.

Analisis Kadar Alkohol: Kadar alkohol diketahui dengan menggunakan oksidasi dan teknis spektrofotometri. Kuvet dicuci hingga bersih dengan larutan sampel sebanyak tiga kali. Dibersihkan dan dikeringkan dengan tisu. Kuvet yang telah bersih diisi dengan akuades hingga tanda batas, sampel teroksidasi dari masing-masing sampel dan dimasukan kedalam spektro. Tekan tombol tes pilih scanning, atur panjang gelombang, atur interval dan kemudian tunggu hasil yang keluar berupa hasil cetak analisis.

Analisis Data: Analisis data pada penelitian ini menggunakan deskripsi kadar asam asetat pada waktu yang berbeda menggunakan rerata tiap ulangan penentuannya.

Hasil dan Diskusi

Pengaruh waktu fermentasi yaitu dengan analisis asam asetat, pengukuran kadar alkohol, pengukuran kadar pH dan pengukuran kadar gula. Pengukuran kadar asam asetat dilakukan dengan cara titrasi asam basa. Perhitungan Mengasilkan 2,892% (7 Hari), 5,51% (10 Hari) dan 5,977 % (13 Hari). Setelah pemberian konsentrasi *Acetobacter aceti* dalam konsentrasi etanol sebanyak 8% dan difermentasi selama 7,10 Dan 13 hari maka dihasilkan kadar asam asetat (Tabel 1).

Tabel 1. Rata-Rata Asam Asetat

Perlakuan (Hari)	Rata- Rata (%)
7	2.75
10	3.59
13	5.11

Pada hari 10 terjadi peningkatan dari 2,75% menjadi 3,59%, pada hari ke 13 juga mengalami kenaikan menjadi 5,11%. Dalam uraian ini maka waktu fermentasi sangat berpengaruh terhadap produk asam asetat yang dihasilkan. Hal ini sesuai dengan penelitian [6]. semakin lama waktu fermentasi semakin banyak juga asam asetat yang dihasilkan. Semakin singkat waktu yang terpakai maka sedikit juga produk yang dihasilkan. Ini artinya terjadi perombakan alkohol oleh bakteri menjadi asam asetat. *Acetobacter Aceti* yaitu mengoksidasi senyawa etanol dengan bantuan udara (aerob) untuk menghasilkan produk baru yaitu asam asetat. Menurut SNI 01-4371-1996, kadar asam pada asam cuka minimal 4 gram/100ml. Pada penelitian yang tergolong sebagai asam cuka atau asetat oleh SNI yaitu di hari ke 13 saja. Pengukuran pH dilakukan dengan pengukur pH meter. Hasil analisis menunjukkan bahwa semakin bertambahnya hari dalam proses fermentasi maka pH yang dihasilkan cenderung menurun. Berdasarkan pengukuran kadar pH dalam masing-masing sampel, ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-Rata nilai pH

Perlakuan (Hari)	Rata-Rata pH
7	5,2
10	4,0
13	3,9

Pada penelitian ini perhitungan kadar gula pada sampel dilakukan dengan analisis spektrometer Uv-Vis dengan metode Nelson -Somogy. Berdasarkan SNI 01-437-1996 kadar suatu gula pada asam cuka adalah 0,05%. Hasil perhitungan pada penelitian ditunjukkan Tabel 3.

Tabel 3. Kadar Gula

Perlakuan (Hari)	Rata- Rata Kadar Gula(%)
7	0.08
10	0.063
13	0.056

Pada hasil spektrometer dan hasil perhitungan angka absorbansi diketahui kadar gula pada masing masing sampel. Larutan pada hari ke 7 menghasilkan 0,080. Pada hari ke 10 nilai yang dihasilkan yaitu 0,063 dan 0,056 pada hari ke 13. Kadar gula yang dihasilkan berkurang pada setiap harinya.. Dalam Penelitian [7] menyatakan semakin lama waktu yang dipakai semakin berkurang pula kadar gula karena gula tersebut digunakan bakteri sebagai energi sumber karbon untuk kebutuhan energi sel. Jamur *Saccharomyces* merombak gula menjadi glukosa dan fruktosa dan fermentasi alkohol. Pada standart SNI 01- 4371-1996, kadar gula yang dimiliki asam cuka minimal dan paling sedikit adalah 0,05%. Pada penelitian ini kadar gula yang terbaik yaitu pada kadar gula hari ke 10 dan hari ke 13.

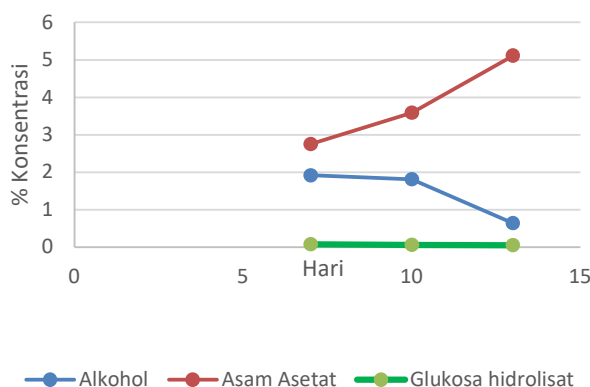
Uji ke empat adalah uji kadar alkohol yang terdapat pada kandungan hasil fermentasi asam asetat. dalam Tabel 4 data yang dihasilkan tersebut terdapat korelasi antara waktu fermentasi dengan konsentrasi alkohol yang dihasilkan. Semakin lama waktu fermentasi yang dilakukan maka semakin banyak pula konsentrasi alkohol yang dihasilkan. Ini merujuk pada penelitian [7], bahwa pengaruh waktu fermentasi dan penambahan konsentrasi inokulum (*Acetobacter Aceti*) terhadap kualitas asam cuka dari buah Kersen (*Muntingia Calabura* L), terdapat pengaruh antara waktu fermentasi dan kadar alkohol yang dihasilkan. Pada hari ke 7 menghasilkan kadar alkohol sebanyak 1,92 % dan ini kadar alkohol yang tertinggi dibandingkan kadar alkohol pada hari 10 (1,815) dan pada hari ke 13 (0,64). Berdasarkan Tabel 1, 3 dan 4 dapat ditunjukkan penurunan dan kenaikan konsentrasi etil alkohol (etanol) - asam asetat dan kondisi glukosa yang tersisa pada media fermentasi (Gambar 1). Dapat diduga glukosa dalam hidrolisat digunakan pula oleh sel untuk kepentingan sumber bioenergi.

Pada Tabel 6 diketahui kriteria SNI dari setiap asam cuka, kadar alkohol, dan kadar gula. Kadar asam cuka pada fermentasi hari ke 7 dan 10 tidak mencapai batas minimal. Namun pada hari ke13 mencapai batas minimal. Begitu juga dengan kadar gula pada hari ke 7 dan 10 kurang dari batas minimal SNI. Sedangkan.

Pada hari ke 10 dan 13 masuk pada kriteria asam cuka karena lebih dari batas minimal. Bahwa konsentrasi yang terbaik dalam pembentukan asam asetat ialah pada hari ke 13. Pada hari ke 10 juga melebihi batas minimal asam cuka namun pada kadar alkohol dan kadar gula masih dibawah nilai SNI.

Tabel 4. Rata-Rata Kadar Alkohol

Perlakuan (Hari)	Rata-Rata Alkohol (%)
7	1,92
10	1,815
13	0,64



Gambar 1. Penurunan konsentasi Etil alkohol, Kenaikan Asam asetat dan kondisi glukosa yang tersisa dalam media.

Tabel 5. Tabel Gabungan Kriteria SNI

Kriteria	SNI*	Hari		
		7	10	13
Asam Cuka (g/100ml)	Min 4	2,75	3,59	5,11
Kadar Alkohol (% V/V)	Maksimal 1	2,03	1,29	0,71
Kadar Gula (%)	Mimimal 0,05	0,080	0,063	0,056

* Sumber: [9]

Kesimpulan

Berdasarkan media produk residu tumbuhan makro alga *Gracilaria sp* dapat diolah menjadi asam asetat dengan bantuan *Acetobacter aceti*. Alga laut tersebut mengandung karbohidrat yang tinggi dalam dinding sel sehingga banyak gula yang terbentuk dari karbohidrat. Gula yang dihasilkan akan dekomposisi menjadi etanol dan selanjutnya asam asetat. Waktu fermentasi berpengaruh terhadap kadar asam asetat, kadar alkohol dan kadar gula yang dihasilkan. Semakin lama waktu fermentasi semakin banyak asam asetat yang dihasilkan. Semakin lama waktu yang dipakai semakin berkurang pula kadar gula karena gula tersebut digunakan bakteri sebagai energi. Kadar asam asetat didapatkan adalah hasil fermentasi pada hari ke 10-13 dengan konsentrasi inokulum *Acetobacter aceti* sebesar 9%.

Daftar Pustaka

- [1] Yoneda, N. 2001. Recent Advances in Processes and Catalysts for The Production of Acetic Acid. *Journal of Applied Catalysis A:General* 221. p. 253–265.
- [2] Syauqi, A. 2017. *Mikrobiologi lingkungan peranan mikroorganisme dan kehidupan*. Penerbit Andi-

Unisma. Yogyakarta.

- [3] Sasadara, M.M.V., Pooja, N.K.A.P. & Putri, N.M.R. 2022. Pengaruh proses pengolahan terhadap gula dan serat total rumput laut Bulung Sangu (*Gracilaria sp*). *JASINTEK* 4(1):7-13. URL <https://jasintek.denpasarinstitute.com/index.php/jasintek/article/download/92/60>
- [4] Syauqi, A. 2022. Biostatistika Komputasi Parameter Statistika Survey dan Eksperimen Biologi, Edisi Revisi. FMIPA Universitas Islam Malang (Unisma). Malang.
- [5] Zahoor, T., Siddique, F., and Farooq, U. 2006. Isolation and Characterization of Vinegar culture (*Acetobacter aceti*) from indigenous source. *British Food Journal* 108(6):249-439. DOI <https://doi.org/10.1108/00070700610668405>
- [6] Yasminto, H. M., Chairul, C., & Utami, S. P. 2019. Pengaruh Volume Inokulum *Acetobacter Aceti* Dan Waktu Fermentasi Terhadap Fermentasi Asam Asetat Dari Nira Aren (*Arenga Pinnata*). *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Teknik dan Sains*, 6, 1-6.
- [7] Rahmawati, N. & Nurlaily, F.A. 2020. Pengaruh Waktu Fermentasi Dan Penambahan Konsentrasi Inokulum *Acetobacter Aceti* Terhadap Kualitas Asam Cuka Dari Buah Kersen (*Muntingia calabura L.*). *INDONESIAN JOURNAL OF MATERIALS CHEMESTRY* 2(2):- URL <https://ejournal.uin-suka.ac.id/saintek/IJMC/article/view/2035>
- [8] SNI No. 01-3711-1995 Cuka Makan 07 Agustus 1995.