

# KAJIAN PEMBENTUKAN ASAM ASETAT PADA PENGOLAHAN LIMBAH PULP KAKAO SECARA ANAEROB

## ACETIC ACID FORMATION STUDY IN COCOA SWEATINGS TREATMENT UNDER ANAEROBIC CONDITION

Mahensa Billqys Nurhayati Prativi

Badan Perencanaan Pembangunan Daerah Provinsi Jawa Barat  
Jln. Ir. H. Juanda No. 287, Bandung  
Pos-el: mahensa\_billqys@yahoo.com

### ABSTRACT

*This research aimed to study the possibility of cacao sweatings treatment to produce intermediate compound i.e. acetic acid in acidogenesis processes. It were carried on an anaerobic Circulating Bed Reactor which is made from flexyglass 6 L capacities and operated in batch system. The operation of two circulating bed reactor conducted at room temperature for 20 days and nitrogen gas flushing is performed at one of the reactor for 10 minutes in the beginning of operation. Gas composition analysis indicates the persistence of O<sub>2</sub> in reactor A, hence the acetic acid formation follows the aerobic pathway and occurs more rapidly. Concentration of O<sub>2</sub> in reactor B is relatively low compared to reactor A. So that is concluded that acetic acid formation reach the anaerobic pathway and run slowly. This research indicates that the presence of O<sub>2</sub> in the reactor affect the pathway of acetic acid formation.*

**Keywords:** cacao pulp, flushing, acidogenesis, acetic acid, oxygen.

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji kemungkinan pengolahan limbah cair pulp kakao melalui daur ulang limbah menjadi asam asetat pada proses asidogenesis secara anaerob dengan kultur curah (*batch*) menggunakan *circulating bed reactor* (CBR) yang terbuat dari *flexyglass* berkapasitas 6 L. Pengoperasian dua reaktor CBR anaerob dilakukan di dalam suhu ruang selama 20 hari dan dilakukan *flushing* gas nitrogen terhadap salah satu reaktor selama 10 menit di awal periode operasi. Hasil analisis gas reaktor A menunjukkan masih adanya gas O<sub>2</sub> sehingga alur pembentukan asam asetat berlangsung secara aerob dan terjadi lebih cepat. Pada reaktor B konsentrasi O<sub>2</sub> di dalam reaktor relatif lebih kecil, alur pembentukan asam asetat mulai bergeser ke arah anaerob sehingga berlangsung lebih lambat. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kehadiran oksigen di dalam reaktor memengaruhi alur pembentukan asam asetat.

**Kata kunci:** pulp kakao, *flushing*, asidogenesis, asam asetat, oksigen.

### PENDAHULUAN

Selama kurun 38 tahun (1967–2005) terjadi peningkatan luas area penanaman kakao, semula 12.839 ha menjadi 992.448 ha dan produksi kakao semula 1.233 ton menjadi 652.396 ton.<sup>1</sup> Peningkatan produksi kakao tentu akan diiringi dengan peningkatan jumlah limbah yang dihasilkan, yaitu

berupa kulit buah dan pulp biji kakao (*cocoa sweatings*) yang sering diistilahkan sebagai pulp kakao. Pengolahan ataupun pemanfaatan limbah tersebut masih sangat terbatas, di pabrik pengolahan biji kakao limbah ini sering dibiarkan saja mengalir ke saluran pembuangan. Apabila limbah ini dibuang ke perairan tanpa pengolahan, tentu saja akan menimbulkan dampak bagi lingkungan.

Limbah pulp kakao mengandung beberapa senyawa, seperti gula yang dapat dijadikan substrat untuk metabolisme beberapa mikroorganisme sehingga menghasilkan senyawa-senyawa alkohol, asam organik, senyawa ester, dan senyawa kimia lainnya. Beberapa penelitian telah dilakukan menggunakan limbah pulp kakao sebagai objek penelitian. Salah satu penelitian dilakukan oleh Taufik Sulam<sup>2</sup> yang menggunakan limbah tersebut sebagai substrat untuk pembentukan senyawa aroma. Prameswari<sup>3</sup> juga meneliti kemungkinan pemanfaatan limbah pulp kakao tersebut dengan menggunakan kultur murni untuk pembuatan asam cuka (asam asetat) yang dikenal dengan istilah vinegar. Vinegar adalah cairan asam hasil fermentasi yang dapat digunakan sebagai penimbul cita rasa dan aroma sehingga dapat berperan sebagai bumbu penyedap masakan.<sup>4</sup> Asam asetat sebagai vinegar dapat diproduksi menggunakan bahan-bahan seperti pisang, jambu monyet, jeruk, nanas, stroberi, dan buah-buahan tropis lainnya.<sup>5,6</sup> Substrat lain yang dapat digunakan di antaranya adalah limbah air kelapa,<sup>7</sup> limbah tetes tebu (molase),<sup>8</sup> dan limbah pertanian.<sup>9</sup> Pengolahan limbah pulp kakao menjadi asam asetat merupakan alternatif pengolahan limbah industri kakao.

Umumnya pengolahan limbah buangan industri secara anaerob akan melalui 2 tahap yaitu asidogenesis dan metanogenesis. Tahap asidogenesis menghasilkan asam sedangkan metanogenesis menghasilkan metan dan CO<sub>2</sub>. Dalam penelitian ini, pengolahan limbah pulp kakao menjadi asam asetat hanya akan sampai pada tahap asidogenesis tidak dilanjutkan ke tahap metanogenesis. Dengan penggunaan limbah pulp kakao sebagai substrat maka diperoleh dua manfaat sekaligus, yang pertama adalah *recovery* limbah dan yang kedua adalah diperolehnya asam asetat yang dapat memberikan keuntungan secara ekonomis. Kondisi anaerob diperoleh dengan melakukan *flushing* gas N<sub>2</sub> ke dalam reaktor untuk mengusir O<sub>2</sub> dari reaktor.<sup>10,11</sup> Tujuan penelitian ini adalah mengkaji kemungkinan pengolahan limbah cair pulp sebagai produk buangan fermentasi biji kakao melalui daur ulang (*recovery*) limbah pulp kakao menjadi asam

asetat secara anaerob dengan kultur curah (*batch*) menggunakan *circulating bed reactor* (CBR).

## METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu limbah pulp kakao sebagai media atau substrat untuk proses asidogenesis yang berasal dari perkebunan coklat PT IGE di Afdeling Cipat, gas N<sub>2</sub>, dan bahan-bahan untuk analisis kimia. Kultur mikroorganisme yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari limbah pulp kakao sebanyak 20% dari seluruh volume reaktor (4,5 L), yaitu sebesar 900 mL.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain adalah reaktor yang terbuat dari *flexyglass* dengan kapasitas 6 L yang dilengkapi dengan leher angsa, aerator, dan selang plastik, alat-alat gelas (gelas ukur, Erlenmeyer, gelas piala, pipet ukur, dan alat gelas lainnya), tabung COD dan COD reaktor, alat sentrifugasi, penangas, perangkat destilasi, piknometer untuk mengukur berat jenis alkohol, timbangan analitik, *binder*, *furnace*, desikator, dan suntikan (*syringe*) 1 mL untuk pengambilan sampel gas.

*Seeding* dan aklimatisasi secara bertahap dengan perbandingan glukosa:limbah mulai dari 100:0, 70:30, 50:50, dan 0:100. Setelah diperoleh kondisi *steady state* atau tunak, dilakukan percobaan utama untuk pengambilan data. Percobaan dilakukan untuk melihat pengaruh kehadiran O<sub>2</sub> di dalam reaktor dengan kondisi yang relatif sama. *Flushing* gas nitrogen dengan kemurnian 99,95% diberikan pada salah satu reaktor selama sepuluh menit di awal percobaan (Reaktor A *flushing* n ol menit, Reaktor B sepuluh menit).

Pengoperasian reaktor berlangsung selama 20 hari dan selama waktu operasi dilakukan pengambilan sampel ini setiap 24 jam untuk analisis COD (*chemical oxygen demand*) terlarut dengan menggunakan metode COD kromat dari Standard Methods 5220 C, VSS (*volatile suspended solid*) menggunakan metode gravimetri yang terdapat pada Standard Methods 2540 E, alkohol dengan menggunakan metode *specific gravity*,<sup>12</sup> asam asetat dengan menggunakan titrasi asam-basa Cox dan Pearson, dan komposisi gas dengan kromatografi gas.

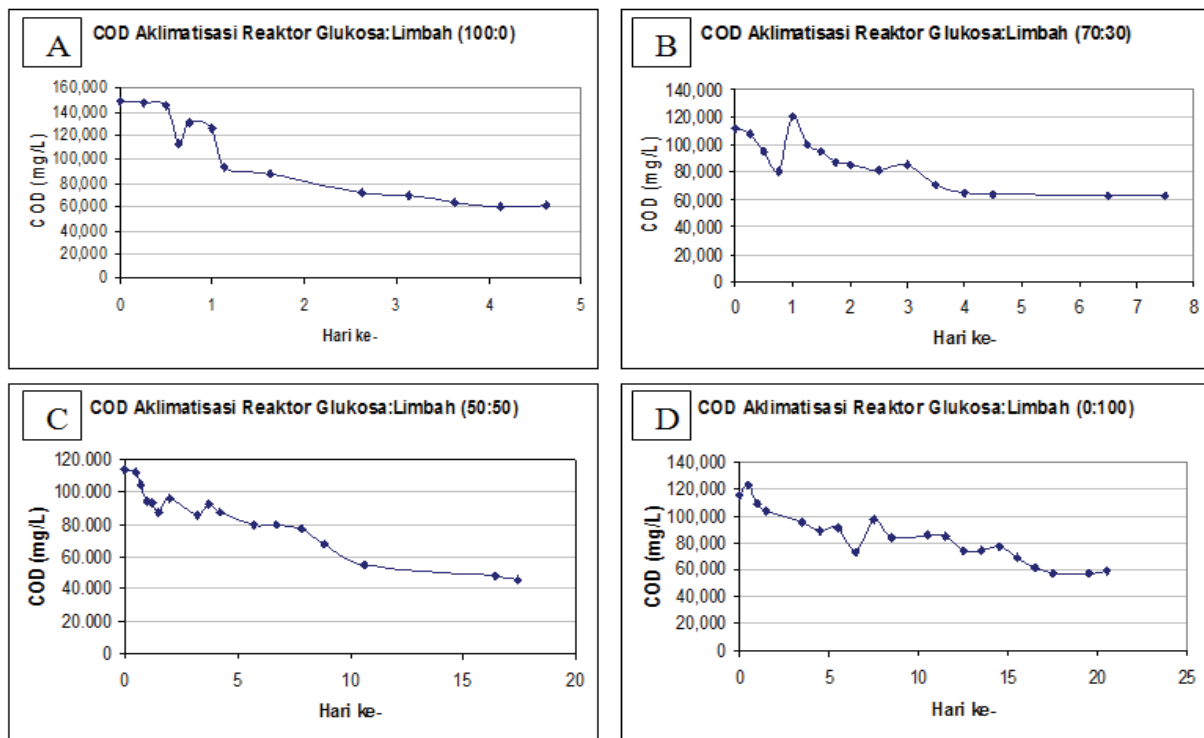
## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Seeding dan Aklimatisasi

Pada tahap awal percobaan dilakukan *seeding* dan aklimatisasi. Tujuan *seeding* adalah memperbanyak jumlah mikroorganisme yang akan digunakan untuk mengolah limbah pulp kakao. Aklimatisasi dilakukan untuk mengadaptasikan mikroorganisme pada limbah cair pulp kakao. Analisis COD dan VSS dilakukan untuk mengetahui penurunan kandungan senyawa organik dari limbah serta peningkatan jumlah mikroorganisme dalam reaktor. Tahap *seeding* dihentikan ketika penurunan COD telah berada pada kondisi tunak atau *steady state*, yaitu ketika penurunan konsentrasi COD relatif tidak berubah secara nyata. Gambar 1 menunjukkan bahwa terjadi perbedaan lamanya waktu pencapaian kondisi tunak, yaitu lima hari saat substrat seluruhnya berisi glukosa dengan perbandingan glukosa:limbah sebesar 100:0 (Gambar 1A), delapan hari saat telah terjadi penambahan limbah pada substrat dengan perbandingan glukosa:limbah sebesar 70:30 (Gambar 1B), 17 hari saat substrat terdiri dari glukosa dan limbah dengan perbandingan 50:50

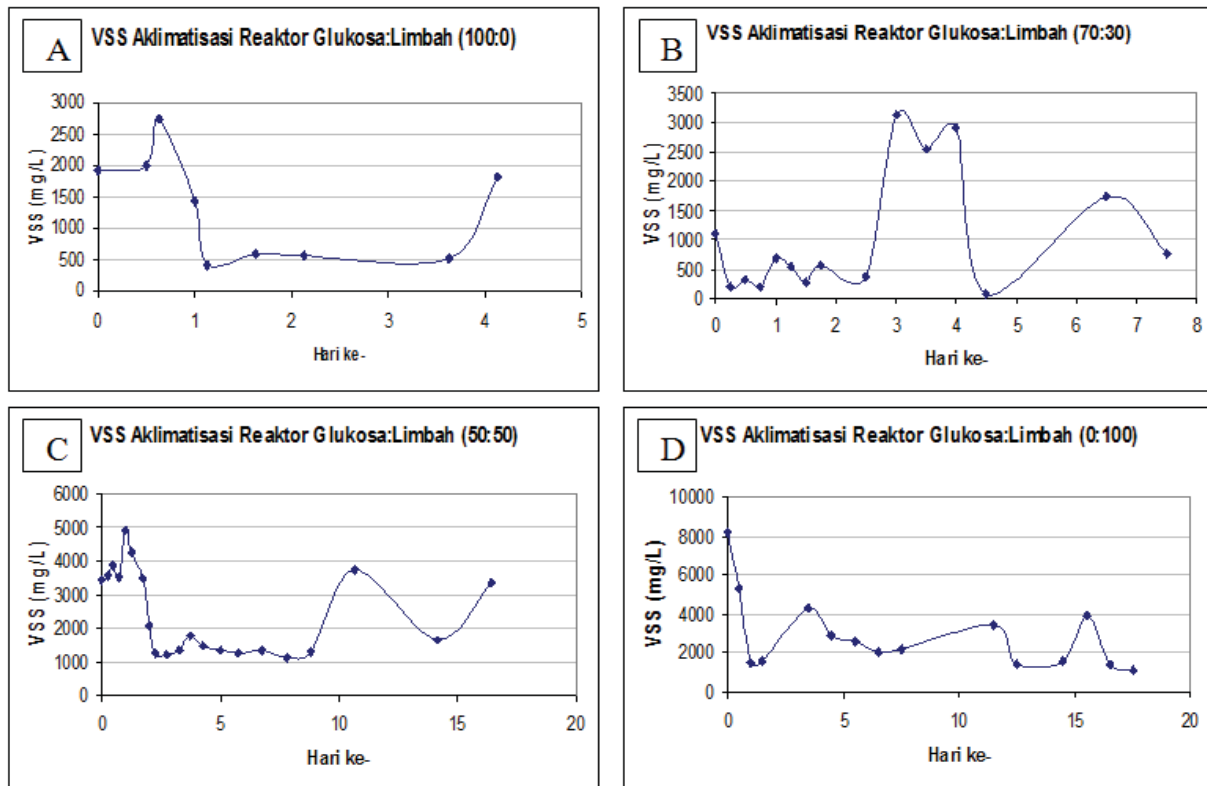
(Gambar 1C), dan 20 hari ketika seluruh substrat hanya terdiri dari limbah pulp kakao tanpa ada penambahan glukosa (Gambar 1D).

Semakin banyak persentase limbah yang ditambahkan, semakin lama pula waktu yang diperlukan untuk mencapai tunak karena berkaitan dengan kemampuan mikroorganisme dalam melakukan metabolisme. Glukosa merupakan senyawa sederhana yang lebih mudah didegradasi oleh mikroorganisme sedangkan limbah pulp kakao yang ditambahkan dalam proses aklimatisasi ini memiliki kandungan senyawa organik yang lebih kompleks. Selain mengandung glukosa, limbah pulp kakao juga mengandung senyawa-senyawa lain seperti sukrosa, pati, pektin, protein, asam-asam *volatile* dan non-*volatile* serta beberapa mineral dalam jumlah kecil.<sup>13</sup> Ketika reaktor mulai ditambahkan dengan limbah pulp kakao, waktu yang diperlukan untuk mencapai kondisi tunak menjadi lebih lama karena kandungan senyawa organik limbah lebih kompleks sehingga memerlukan waktu yang lebih lama untuk mengubah senyawa tersebut menjadi senyawa yang lebih sederhana.



**Gambar 1.** Kurva Konsentrasi COD Aklimatisasi Reaktor

Keterangan: (A) Reaktor Glukosa:Limbah 100:0, (B) Reaktor Glukosa:Limbah 70:30, (C) Reaktor Glukosa:Limbah 50:50, (D) Reaktor Glukosa:Limbah 0:100



**Gambar 2.** Kurva VSS Aklimatisasi Reaktor

Keterangan: (A) Reaktor Glukosa:Limbah 100:0, (B) Reaktor Glukosa:Limbah 70:30, (C) Reaktor Glukosa:Limbah 50:50, (D) Reaktor Glukosa:Limbah 0:100

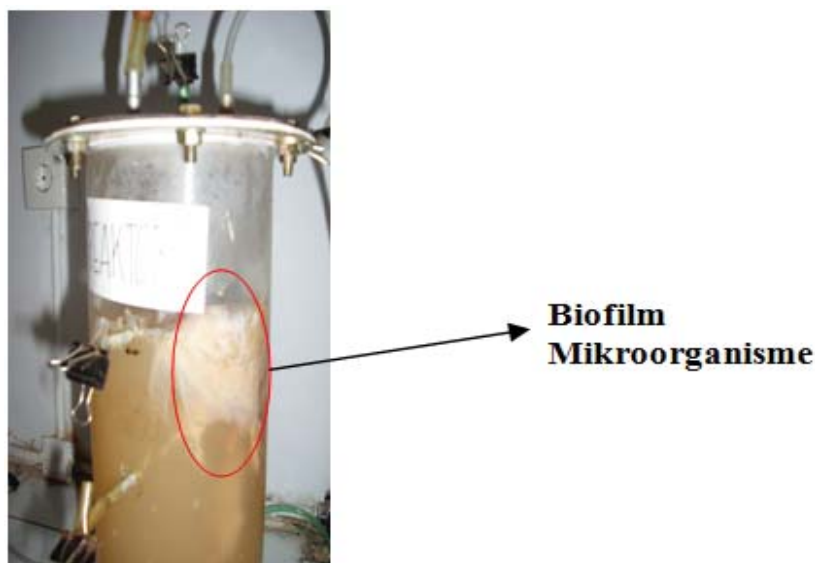
Kurva VSS selama *seeding* dan aklimatisasi tidak mengikuti kurva pertumbuhan bakteri yang berbentuk *sigmoid* yaitu terdapat fase lag, logaritmik, stasioner, dan penurunan, bahkan kurva VSS cenderung mengalami penurunan (Gambar 2A, B, C, D). Adanya kompetisi di dalam reaktor dan pembentukan alkohol yang bersifat disinfektan menyebabkan kematian mikroorganisme. Penurunan nilai VSS berkaitan pula dengan pembentukan biofilm serta flok pada dinding dan permukaan reaktor (Gambar 3). Biofilm merupakan salah satu bentuk hidup mikroorganisme yang tumbuh dan menempel di suatu permukaan dan dikelilingi oleh senyawa berlendir yang merupakan hasil sekresinya. Biofilm biasanya tumbuh di permukaan yang kontak dengan air sebagai mekanisme pertahanan diri dari kondisi eksternal yang ekstrem, seperti *shear stress*, kekurangan nutrisi, perubahan pH, oksigen radikal, disinfektan, dan antibiotik.<sup>14</sup> *Acetobacter aceti* sebagai salah satu bakteri yang berperan dalam fermentasi biji cokelat dan

diperkirakan terdapat di dalam limbah pulp kakao juga mampu membentuk biofilm.<sup>15</sup>

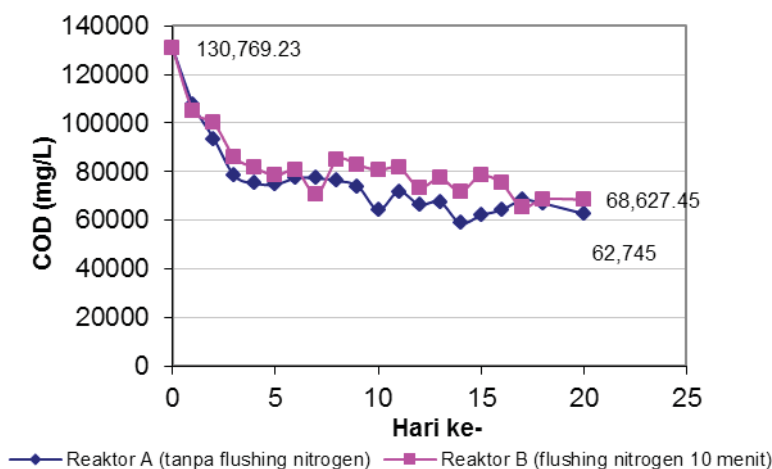
Pembentukan flok dan biofilm ini mengakibatkan jumlah mikroorganisme yang tersuspensi di dalam limbah menjadi lebih sedikit. Sementara itu, pengukuran VSS didasarkan pada materi padatan yang tersuspensi di dalam limbah. Pada saat pengukuran VSS diusahakan sampel yang diambil hanya materi padatan yang tersuspensi, tidak mengandung flok ataupun biofilm tetapi kadang kala flok ikut terambil sehingga nilai VSS menjadi berfluktuasi.

### Pengoperasian Reaktor CBR–Anaerob

Setelah proses *seeding* selesai, dilanjutkan dengan percobaan utama yaitu melihat pengaruh pemberian *flushing* gas nitrogen terhadap pembentukan asam asetat. Perbandingan COD kedua reaktor menunjukkan adanya penurunan nilai COD yang tidak jauh berbeda (Gambar 4). Efisiensi penyisihan COD pada reaktor A sebesar 52,02% dengan laju penyisihan sebesar 3.401,21 mg/L/hari sedangkan efisiensi penyisihan COD pada



**Gambar 3.** Biofilm Mikroorganisme yang Terbentuk pada Reaktor Selama Percobaan



**Gambar 4.** Perbandingan Konsentrasi COD Reaktor

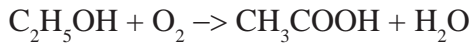
reaktor B sebesar 47,52% dengan laju penyisihan substrat sebesar 3.107,09 mg/L/hari. Penurunan nilai COD tersebut merupakan indikasi adanya penurunan nilai kandungan organik di dalam limbah akibat adanya aktivitas mikroorganisme.

Perbandingan nilai VSS dari kedua reaktor dapat dilihat pada Gambar 5. Penurunan nilai VSS di kedua reaktor seperti halnya pada tahap *seeding* dan aklimatisasi diakibatkan oleh kompetisi di dalam reaktor sehingga menyebabkan terjadinya kematian mikroorganisme. Selain itu, terjadi pembentukan biofilm dan flok di dalam reaktor sehingga mikroorganisme yang tersuspensi di dalam limbah menjadi berkurang jumlahnya.

Pada awal periode reaksi kedua reaktor menunjukkan konsentrasi alkohol yang cenderung mengalami peningkatan sampai dengan hari ke-5 (Gambar 6) karena pada awal reaksi terjadi fermentasi dari glukosa menjadi alkohol. Setelah hari kelima, grafik reaktor A menunjukkan terjadinya penurunan konsentrasi alkohol yang cukup signifikan karena telah terjadi reaksi oksidasi alkohol menjadi asam asetat. Seperti disebutkan dalam Frazier<sup>4</sup> bahwa pembentukan asam asetat terjadi dalam dua langkah, yaitu yang *pertama* adalah fermentasi glukosa menjadi etil alkohol secara anaerob dengan reaksi sebagai berikut:



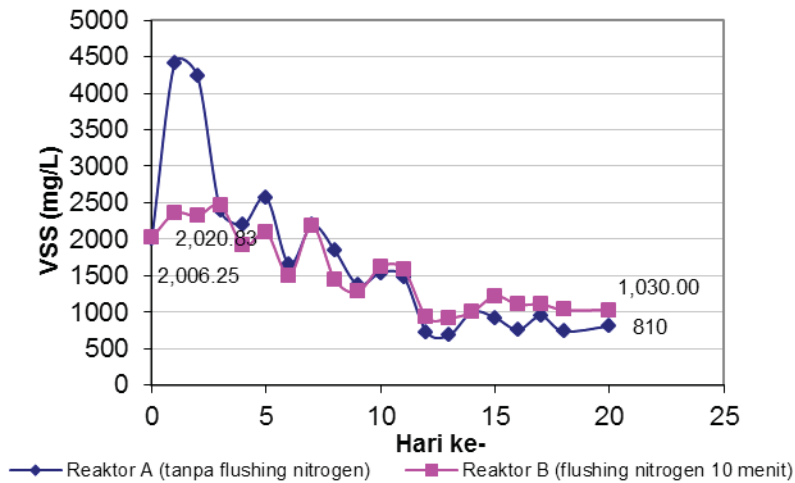
Kemudian yang *kedua* dilanjutkan dengan oksidasi alkohol menjadi asam asetat yang melibatkan bakteri asam asetat. Reaksi yang terjadi sebagai berikut:



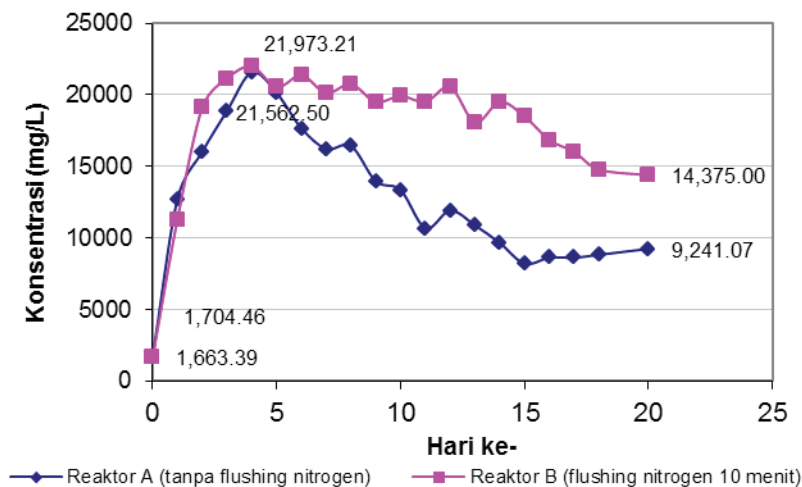
Penurunan konsentrasi alkohol tersebut disertai dengan peningkatan konsentrasi asam asetat seperti dapat dilihat pada Gambar 7. Pada reaktor A terjadi reaksi anaerob dan aerob; reaksi anaerob terjadi pada proses fermentasi alkohol dan aerob pada pembentukan asam asetat. Hal tersebut dapat terjadi karena kehadiran  $O_2$  di dalam reaktor (Gambar 8) yang kemungkinan

masih terdapat di dalam reaktor karena pada reaktor A tidak dilakukan *flushing* nitrogen.

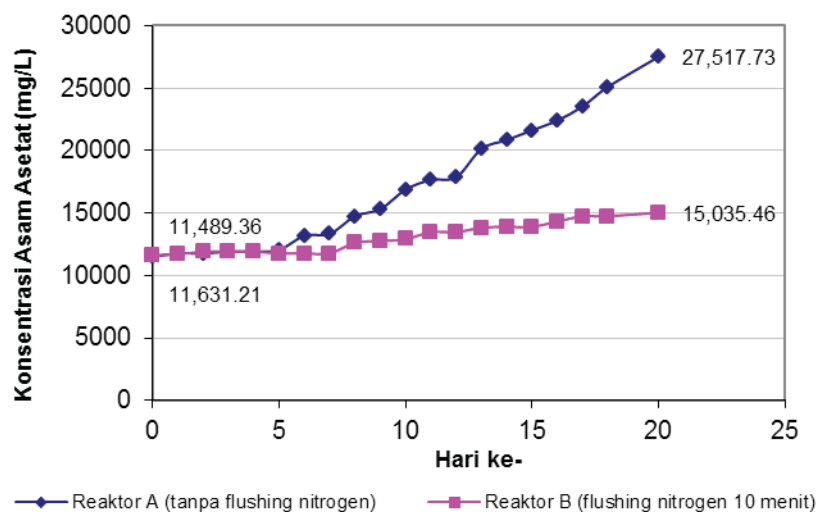
Pada reaktor B penurunan konsentrasi alkohol tidak setinggi reaktor A (Gambar 6) dan konsentrasi asam asetat yang dihasilkan juga tidak setinggi reaktor A (Gambar 7) karena pada reaktor B dilakukan *flushing* nitrogen di awal periode operasi. *Flushing* nitrogen mengakibatkan  $O_2$  keluar dari reaktor dan reaksi yang terjadi di dalam reaktor tidak lagi melibatkan  $O_2$  (mulai bergeser ke arah anaerob).



Gambar 5. Perbandingan VSS Reaktor



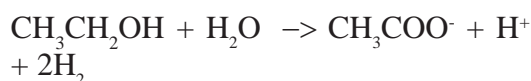
Gambar 6. Perbandingan Kadar Alkohol Reaktor



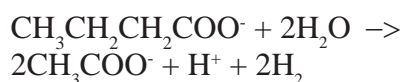
Gambar 7. Perbandingan Konsentrasi Asam Asetat Reaktor

Pada kondisi anaerob ini glukosa yang ada di dalam limbah tidak seluruhnya terurai menjadi asam asetat tetapi menjadi alkohol atau asam-asam volatil lain lebih dulu (butirat dan propionat), kemudian bereaksi dengan air membentuk asam asetat seperti yang terlihat dalam reaksi berikut.<sup>16</sup>

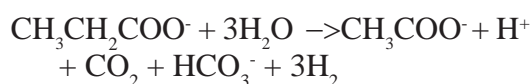
- Pembentukan asam asetat dari etanol:



- Pembentukan asam asetat dari asam butirat:



- Pembentukan asam asetat dari asam propionat:

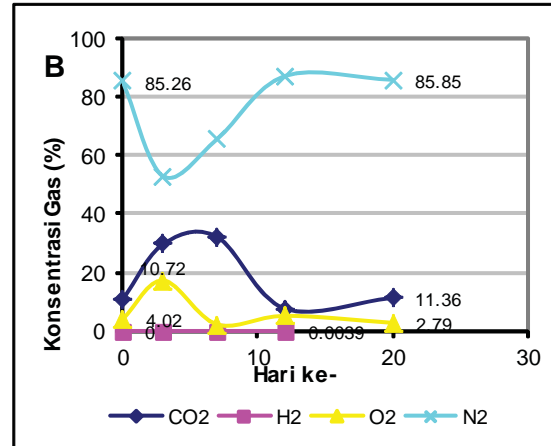
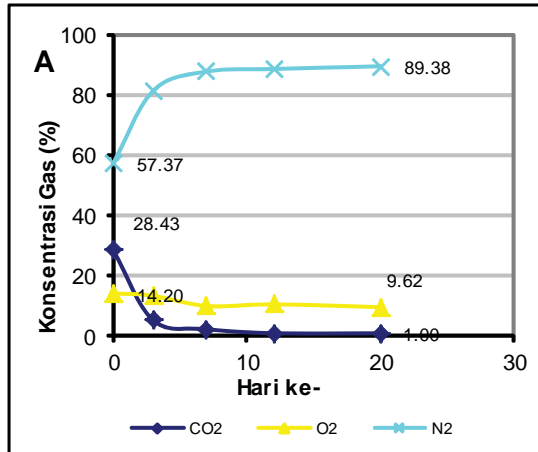


Pada penelitian ini dilakukan pengukuran komposisi gas yang terdapat di dalam reaktor dengan menggunakan Kromatografi Gas (GC) untuk melihat pengaruh dari pemberian *flushing* gas  $\text{N}_2$ . Hasil pengukuran tersebut dapat dilihat pada Gambar 8. Komposisi gas pada dua percobaan menunjukkan hasil yang berbeda. Pada  $t_0$ , konsentrasi gas  $\text{O}_2$  di dalam reaktor B

yang di-*flushing* dengan nitrogen di awal operasi memperlihatkan konsentrasi  $\text{O}_2$  reaktor yang rendah, sedangkan reaktor A yang tidak di-*flushing* dengan nitrogen menunjukkan konsentrasi  $\text{O}_2$  yang cukup tinggi, yaitu sebesar 14,1975% v/v. Akan tetapi pada akhir reaksi, konsentrasi  $\text{O}_2$  pada reaktor B sangat rendah yaitu sebesar 2,7908% v/v sedangkan pada reaktor A masih cukup tinggi, yaitu sebesar 9,6232% v/v. Pada reaktor A tidak ditemukan adanya gas  $\text{H}_2$  sedangkan pada reaktor B ditemukan adanya gas  $\text{H}_2$  pada hari ke-12 yaitu sebesar 0,0039% v/v. Hal tersebut menandakan bahwa reaksi di dalam reaktor telah memasuki tahap asidogenesis.  $\text{H}_2$  yang terbentuk akan terakumulasi di dalam reaktor dan menghambat pembentukan asam asetat sehingga konsentrasi asam asetat yang dihasilkan pada reaktor B relatif lebih rendah.

## KESIMPULAN

Limbah cair pulp kakao masih dapat dimanfaatkan dan diolah secara anaerob menghasilkan berbagai senyawa antara dalam proses asidogenesis seperti etanol dan asam asetat. Konsentrasi gas  $\text{O}_2$  yang terdapat di dalam reaktor memengaruhi *pathway* (jalur) pembentukan asam asetat. Kehadiran gas  $\text{O}_2$  pada reaktor A mengakibatkan alur pembentukan asam asetat berlangsung secara aerob dan terjadi lebih cepat sedangkan konsentrasi  $\text{O}_2$  di dalam reaktor B relatif lebih kecil maka alur pembentukan asam asetat mulai bergeser ke arah



**Gambar 8.** Komposisi Gas Reaktor

Keterangan: A: Reaktor A (tanpa flushing nitrogen), B: Reaktor B (flushing nitrogen 10 menit)

anaerob sehingga berlangsung lebih lambat. Flushing gas nitrogen di awal periode operasi menyebabkan O<sub>2</sub> keluar dari reaktor sehingga reaksi pembentukan asam asetat mulai bergeser ke arah anaerob.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Dr. Ir. Mindriany Syafila, M.S. dan Dr. Ing. Marisa Handajani, S.T., M.T. selaku pembimbing atas bantuan selama penulis melaksanakan penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

- <sup>1</sup>Direktorat Jenderal Perkebunan. 2006. *Road Map Kakao 2005–2025*. Jakarta.
- <sup>2</sup>Taufik, Sulam. 1996. *Produksi Senyawa Aroma dari Lendir Biji Kakao oleh Trichoderma Sp. pada Variasi Waktu Fermentasi, pH dan Kecepatan Pengadukan*. Skripsi. Bogor: IPB.
- <sup>3</sup>Prameswari, E.A. 2004. *Optimasi Produksi Vinegar dari Limbah Cair Pulp Kakao (Theobroma cacao L.) menggunakan Ragi Saccharomyces cerevisiae dan Bakteri Acetobacter aceti dengan Metode “Quick Process”*. Skripsi. Bandung: ITB.
- <sup>4</sup>Frazier, W.C. & D.C. Westhoff. 1988. *Food Microbiology*, 4<sup>th</sup> ed. New York: McGraw-Hill Publishing Company Ltd.
- <sup>5</sup>Maldonado, O., L. Carlos, dan S.C. Sheryl. 1975. Wine and Vinegar Production from Tropical Fruit. *Journal of Food Science* 40(2), 262–265.

- <sup>6</sup>Rosdyana, A. 2004. *Optimasi Produksi Vinegar dari Buah Nanas (Ananas comosus) Menggunakan Metode Quick Process dengan Melibatkan Ragi Saccharomyces cerevisiae dan Bakteri Acetobacter aceti*. Skripsi. Bandung: ITB.

- <sup>7</sup>Susilowati A. 2001. *Kajian Awal Pembuatan “Vinegar” dari Air Kelapa dan Limbah Cair Pembuatan “Nata de Coco” dengan Metode Quick Process*. Tesis. Bandung: Program Pascasarjana ITB.

- <sup>8</sup>Muluk, M.A. 2010. *Pemanfaatan Molases Menjadi Vinegar dengan Proses Fermentasi Menggunakan Zymomonas mobilis dan Acetobacter aceti*. Tugas Akhir. Surabaya: ITS.

- <sup>9</sup>Kusharyati, D.F., D. Ryandini, dan P.M. Hendrati. *Pemanfaatan Limbah Pertanian sebagai Substrat Produksi “Vinegar” dengan Inokulum Acetobacter aceti Melalui Fermentasi Alkohol*. Purwokerto: Unsoed

- <sup>10</sup>Rontani, J.F. et al. 2002. Aerobic and Anaerobic Metabolism of Squalene by a Denitrifying Bacterium Isolated from Marine Sedimen. *Archive of Microbiology*, Volume 178, Issue 4, 279–287.

- <sup>11</sup>Kuyper, M. et al. 2004. Minimal Metabolic Engineering of Saccharomyces cerevisiae for Efficient Anaerobic Xylose Fermentation: A Proof of Principle. *FEMS Yeast Research*. 4(6): 655–664.

- <sup>12</sup>Farmakope Indonesia. 2000. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- <sup>13</sup>Rohan, T.A. dan T. Stewart. 1967. The Precursors of Chocolate Aroma: Production of Free Amino Acids During Fermentation of Cocoa Beans. *Journal Food Science*. 32: 392–398.



- <sup>14</sup>Junghyun Kim, Hee-Deung Park, dan Seok Chung. 2012. Microfluidic Approaches to Bacterial Biofilm Formation. *Journal Molecules*. 17, 9.818-9.834.
- <sup>15</sup>Adams, M.R. 1997. Vinegar. dalam Wood, B.J.B. (Eds). *Microbiology of Fermented Food*, Volume 1. New York: Elsevier Applied Science Publishers Ltd.
- <sup>16</sup>Gottschalk, G. 1985. *Bacterial Metabolism Second Edition*. New York: Springer-Verlag

