

PAIR/T.301/94

PENGARUH PENGGUNAAN BAKTERI IRADIASI  
PADA PEMBENTUKAN ASAM ASETAT DARI  
GLUKOSA DAN ALKOHOL

Jenny M.U, Hashimoto S.

# PENGARUH PENGGUNAAN BAKTERI IRADIASI PADA PEMBENTUKAN ASAM ASETAT DARI GLUKKOSA DAN ALKOHOL

Jenny M.U \*, Hashimoto, S \*\*,.

## ABSTARAK

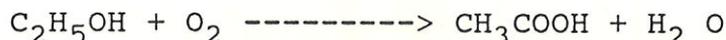
PEANGARUH PENGGUNAAN BAKTERI IRADIASI PADA PEMBENTUKAN ASAM ASETAT DARI GLUKOSA DAN ALKOHOL. Telah dilakukan penelitian pengaruh penggunaan baktri iradiasi pada pembentukan asam asetat dalam media buatan yang mengandung glukosa dan alkohol. Suspensi bakteri asam asetat (*Acetobacter acetigenium*) mula-mula diaerasi, kemudian diiradiasi dengan sinar gamma ( $^{60}\text{Co}$ ) dengan dosis 0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 dan 0,6 kGy, pada laju dosis 1,5 kGy/jam. Selanjutnya diinokulasikan ke dalam media buatan dan diinkubasi dengan pengocokan selama 6x24 jam pada suhu 30°C. Pengukuran kadar asam asetat dalam media dilakukan setiap 2 hari sekali. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa kadar asam asetat yang tertinggi terjadi pada fermentasi hari ke-6 dengan menggunakan bakteri yang diiradiasi dengan dosis 0,3 kGy, sedangkan kadar glukosa dan alkohol dalam media menurun.

## ABSTRACT

EFFECT IRRADIATED BACTERIA UTILIZATION ON ACETIC ACID FORMATION FROM GLUCOSE AND ALCOHOL. A study has been conducted to observe the effect of irradiate bacteria utilization on acetic acid formation in artificial media containing glucose and alcohol. The suspension of *Acetobacter acetigenium* was first aerated and the irradiated with gamma-ray ( $^{60}\text{Co}$ ) at 0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 0,5 and 0,6 kGy with dose rate of 1,5 kGy/hour. The irradiated bacteria were then inoculated in the artificial media and incubated for 6x24 hours at 30°C with shaking. The measurements of acetic acid produced were done every 2 days. The results showed that the highest acetic acid concentration was obtained after 6 days of fermentation of glucose and alcohol in the media decreased.

## PENDAHULUAN

Fermentasi asam asetat adalah suatu proses yang bersifat oksidatif, yaitu larutan alkohol encer dioksidasi oleh bakteri asam asetat dengan adanya oksigen dari udara menjadi asam asetat dan air. Reaksi oksidasi berjalan menurut persamaan :



\* Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, BATAN, Jakarta

\*\* Takasaki Radiation Chemistry Research Establishment, JAERI JAPAN

Bahan baku untuk fermentasi asam asetat harus mengandung alkohol, gula, air dan nutrisi untuk menunjang pertumbuhan bakteri asam asetat, Menurut beberapa peneliti terdahulu (1), kadar alkohol untuk pembuatan asam asetat sangat bervariasi bergantung pada strain bakteri asam asetat yang digunakan. Umumnya bakteri yang digunakan adalah Acetobacter acetigenum, A. pasteurianus dan A. peroxidans (2).

Pada penelitian terdahulu (3) telah dilakukan percobaan dengan menggunakan limbah buah nanas untuk memproduksi asam asetat dengan bakteri asam asetat yang diiradiasi. Pada penelitian tersebut digunakan bakteri A. Acetigenium untuk fermentasi asam asetat. Hasilnya ternyata bakteri A. Acetigenium yang diiradiasi dengan dosis 0,3 kGy dapat meningkatkan kadar asam asetat sebanyak kurang lebih 7 kali.

Iradiasi dapat memberikan pengaruh pada mikroba untuk meningkatkan produk fermentasi. Menurut beberapa penulis (4, 5, 6), mikroba yang diiradiasi dengan dosis yang tepat dapat memberikan pengaruh positif seperti menaikkan hasil fermentasi, dan menstimulasi aktivitas enzim amilase dan produksi alkohol.

Tujuan penelitian ini ialah untuk mengetahui pengaruh penggunaan bakteri A. acetigenum iradiasi pada pembentukan asam asetat dalam media buatan yang mengandung glukosa dan alkohol.

#### **BAHAN DAN METODE**

Bahan yang digunakan pada percobaan ini adalah media buatan dengan komposisi 1% glukose (g/ml), 0,3% pepton (g/ml), 0,5% yeast extract (g/ml). dan 5% alkohol (ml/ml).

Bakteri yang digunakan, yaitu bakteri A. acetigenium diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi dan Teknologi Fermentasi ITB.

Persiapan Iradiasi. Bakteri A. acetigenium ditumbuhkan pada media miring Glucose Pepton Yeast Extract agar, dan diinkubasi selama 3x24 jam pada suhu 30°C (First culture). Media Glucose Pepton Yeast Extract Agar terdiri dari 3% glukosa (g/ml). 0,3% pepton (g/ml), 0,5% yeast

extract (g/ml) dan 2% agar (g/ml). Setelah tumbuh, bakteri diinokulasikan kedalam media Glukosa Pepton Yeast Extract Broth selama 3x24 jam dengan dikocok (100 rpm) pada suhu 30°C (second culture). Media Glucose Pepton Yeast Extract Broth terdiri dari 3% glukosa (g/ml), 0,3% pepton (g/ml), dan 0,5% yeast extract (g/ml).

Setelah tumbuh, sel bakteri dipanen dengan disentrifugasi, dicuci dan diiradiasi dalam bentuk larutan dengan sinar gamma pada dosis 0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 dan 0,6 kGy, dengan laju dosis 1,5 kGy/jam.

**Penentuan Jumlah Bakteri (TPC).** Larutan bakteri A. acetigenium yang telah diiradiasi dibuat pengenceran bertingkat, kemudian ditanam pada cawan petri yang mengandung media Glucose Pepton Yeast Extract Agar. Inkubasi dilakukan selama 3x24 jam pada suhu 30°C, kemudian dihitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh.

Data yang diperoleh digambarkan sebagai kurva pertumbuhan bakteri pada kertas grafik semilog. Pada absis digambarkan dosis iradiasi, dan jumlah bakteri/ml digambarkan pada ordinat. Gambar-gambar tersebut diolah dengan menggunakan program komputer N-graph.

**Proses Fermentasi dan Pengamatan.** Larutan bakteri A. Acetigenum (yang telah diiradiasi) diinokulasikan sebanyak 5 ml ke dalam 100 ml media buatan. Kemudian diinkubasi selama 6x24 jam dengan pengocokan (50 rpm), pada suhu 30°C. Fermentasi dilakukan dalam erlenmeyer 500 ml dengan

penutup silikon. Pengambilan contoh untuk dianalisis dilakukan setiap dua hari masing-masing sebanyak 4 ml dengan menggunakan jarum suntik steril.

Penentuan kadar asam asetat, glukosa dan alkohol dilakukan dengan menggunakan alat *High Performance Liquid Chromatograph* (HPLC, tipe Hitachi 655 Liquid Chromatograph).

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

Gambar 1 menunjukkan pengaruh iradiasi pada jumlah bakteri dalam inokulasi. Pada dosis 0 kGy (tidak diiradiasi) jumlah bakteri didapat sebesar  $3,5 \times 10^8$  koloni/ml. Setelah diiradiasi dengan dosis 0,6 kGy, jumlah bakteri menurun menjadi  $6,6 \times 10^5$  koloni/ml. Menurunnya jumlah bakteri tersebut menunjukkan bahwa iradiasi dengan dosis 0,6 kGy sudah dapat membunuh sebagian bakteri yang ada. Penurunan jumlah bakteri yang cukup besar pada dosis tersebut menunjukkan pula bahwa A. acetigenum relatif peka terhadap radiasi.

Gambar 2 melukiskan pengaruh iradiasi pada jumlah bakteri dalam substrat sebelum dan sesudah fermentasi. Pada gambar tersebut terlihat bahwa jumlah bakteri asam asetat sebelum fermentasi pada dosis 0 kGy (tidak diiradiasi) adalah  $1,6 \times 10^7$  koloni/ml. Jumlah bakteri berbeda, karena jumlah bakteri pada inokulum yang diiradiasi sudah lebih rendah. Pada fermentasi hari ke-2, 4 dan 6, jumlah bakteri meningkat dibandingkan dengan sebelum fermentasi.

Hal ini disebabkan tersedianya banyak nutrisi untuk pertumbuhan atau penyembuhan dan perkembangbiakan bakteri (7).

Gambar 3 memperlihatkan pengaruh bakteri iradiasi pada konsentrasi alkohol dalam substrat selama proses fermentasi. Sebelum fermentasi, konsentrasi alkohol adalah 5%, lalu setelah fermentasi hari ke-2, 4 dan 6 konsentrasi alkohol menurun, Hal ini disebabkan sebagian alkohol telah diubah oleh bakteri menjadi asam asetat (3). Makin lama waktu fermentasi, makin menurun fermentasi alkohol dalam media.

Gambar 4 memperlihatkan pengaruh bakteri iradiasi pada konsentrasi glukosa dalam substrat. Kadar glukosa dalam substrat sebelum fermentasi adalah 1%, lalu setelah mengalami fermentasi kadarnya menurun. Hal ini disebabkan glukosa digunakan bakteri sebagai sumber energi atau nutrisi untuk kelangsungan hidupnya. Pada fermentasi hari ke-2, 4 dan 6, konsentrasi glukosa tidak menunjukkan perbedaan yang nyata.

Demikian pula dengan pengaruh dosis iradiasi, pada fermentasi hari ke-2, 4 dan 6 tidak terlihat perbedaan yang nyata pada kadar glukosa dalam substrat. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri asam asetat hanya menggunakan glukosa untuk keperluan hidupnya sebagai sumber nutrisi.

Pengaruh dosis iradiasi terhadap konsentrasi asam asetat sebagai hasil fermentasi oleh *A. acetigenum*, dapat dilihat pada gambar 5. Terlihat bahwa pada fermentasi hari

ke-2, konsentrasi asam asetat pada dosis 0 kGy adalah 0,20%, lalu pada hari ke-4 meningkat menjadi 0,74%, dan pada hari ke-6 meningkat lagi menjadi 1,34%. Konsentrasi asam asetat tertinggi diperoleh pada dosis 0,3 kGy dengan waktu fermentasi 6 hari. Konsentrasi asam asetat sebagai hasil fermentasi A. acetigenum pada dosis 0,3 kGy dengan waktu fermentasi 2,4 dan 6 hari masing-masing sebesar 0,78%, 1,20% dan 2,20%. Hal ini menunjukkan bahwa dosis iradiasi sebesar 0,3 kGy dapat menstimulasi bakteri A. acetigenum untuk menghasilkan asam asetat yang lebih tinggi daripada bakteri yang tidak diiradiasi (3).

Pengaruh jumlah bakteri yang diiradiasi sampai dosis 0,6 kGy terhadap pembentukan asam asetat dilukiskan pada Gambar 6. Terlihat bahwa makin tinggi jumlah bakteri iradiasi dan makin rendah dosis iradiasi, konsentrasi asam asetatnya menurun. Hal ini terjadi baik pada fermentasi hari ke-2, 4 maupun ke-6.

Fermentasi pada hari ke-6 dengan jumlah bakteri iradiasi (0,3 kGy) sebanyak  $1 \times 10^5$  koloni/ml menghasilkan konsentrasi asam asetat yang paling tinggi, yaitu sekitar 2,20%.

Gambar 7 menunjukkan pengaruh jumlah bakteri yang tidak diiradiasi terhadap pembentukan asam asetat, Pada bakteri yang tidak diiradiasi, pengenceran sampai jumlah sekitar  $1 \times 10^7$  koloni/ml, jumlah koloninya kurang lebih sama dengan bakteri yang diiradiasi sampai dengan dosis 0,6 kGy. Pada fermentasi hari ke-2 terlihat makin tinggi jumlah bakteri, konsentrasi asam asetatnya meningkat. Akan

tetapi pada fermentasi hari ke-4 dan ke-6, makin tinggi jumlah bakteri, konsentrasi asam asetat kecendrungan makin menurun. Dilihat dari Gambar 6 dan 7, pada fermentasi hari ke-6 dengan jumlah bakteri yang sama ( $10^5$ ), bakteri yang diiradiasi menghasilkan asam asetat sebesar 2,20%, sedangkan bakteri yang tidak diiradiasi hanya menghasilkan asam asetat 1,10%. Hal ini menunjukkan bahwa iradiasi terhadap bakteri A. acetigenum dapat meningkatkan kemampuannya dalam memproduksi asam asetat.

## KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa iradiasi dapat meningkatkan daya fermentasi bakteri A. acetigenum. Produksi asam asetat yang tertinggi terjadi pada fermentasi hari ke-6 dengan menggunakan bakteri yang diiradiasi dengan dosis 0,3 kGy, yang disertai dengan penurunan kadar glukosa dan etanol dalam substrat. Bakteri A. acetigenum yang diiradiasi dengan dosis 0,3 kGy pada fermentasi hari ke-6 menghasilkan asam asetat 2x lipat dibandingkan dengan bakteri yang tidak diiradiasi.

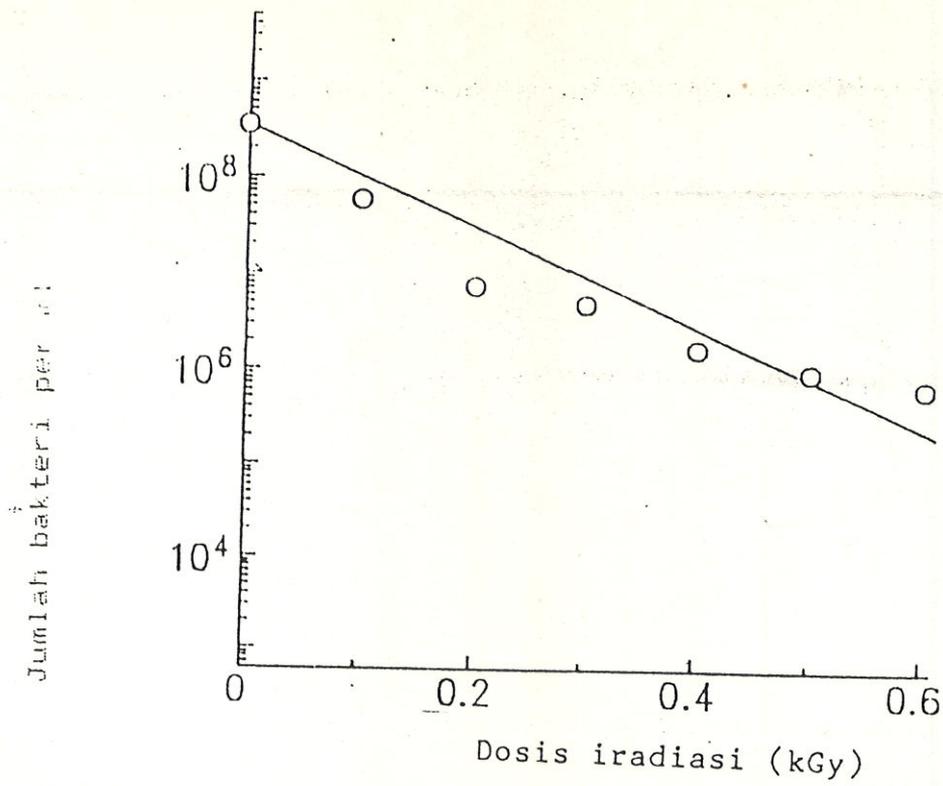
## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada *Japan Atomic-Energy Agency* khususnya *Resources Utilization Technology Laboratory*, yang telah menyediakan fasilitas sehingga penelitian ini dapat berjalan lancar.

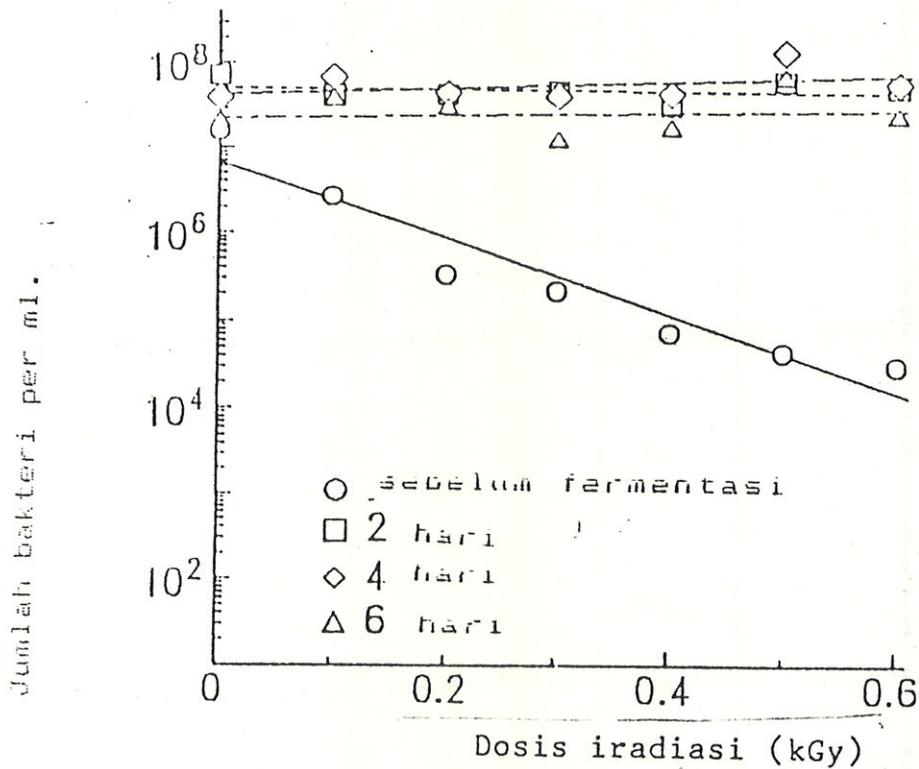
## DAFTAR PUSTAKA

1. PUJIRAHARTI, S., dan KAROSI, A.T., Pengaruh konsentrasi inokulum pada fermentasi asam asetat dari anggur buah jambu mente, *Buletin Limbah Pangan* 5 4 (1990) 447.
2. WULF, C. and ANNELIESE, C., "Organic acids", *Biotec-nology : A Texbook of Industrial Microbiology* (Thomas D.Brock cd), (1994) 122.
3. JENNY, M.U., SUSIANA and LINA M.R., "Stimulasi bakteri penghasil asam asetat dengan iradiasi", (Risalah Pertemuan Ilmiah Apisora, 1992), Badan Tenaga Atom Nasional, Jakarta (1993) 527.
4. LINA, M.R., SUSIANA, and GANJAR, I., The effect of gamma irradiation on alcoholik fermentation of cassa-va by *S. cerevisae* and *Kluveromyces marxianus*, *Atom Indonesia* 12 1 (1986) 1.
5. TALIPOVA, S.H., GULYAMOVA, N., and BALASANYAN, I.A., *uzb,Bio.Zh.*, 1 (1978) 14.
6. ANDINI, L., SRI HAARIANI, AAGUSTIN, S., dan ANASTASIA, S.D., "Pengaruh kapang iradiasi pada substrak sagu yang diiradiasi", (Risalah Pertemuan Ilmiah Apisora, 1992), Badan Tenaga Atom Nasional, Jakarta (1993) 617.
7. ANONYMOUS, Practical ideas converts pineapple waste to vinegar, *Food Engineering*, August (1973) 80.
8. ADAMS, M.R., "The small scale vinegar production from bananas", *Tropical Product Institute*, London, (1980).
9. JENNY, M.U., and HASHIMOTO, S., Production of acetat acid by *A. acetigenum* from liquid waster model, *TRCRE Japan*. (1993), unpublished.

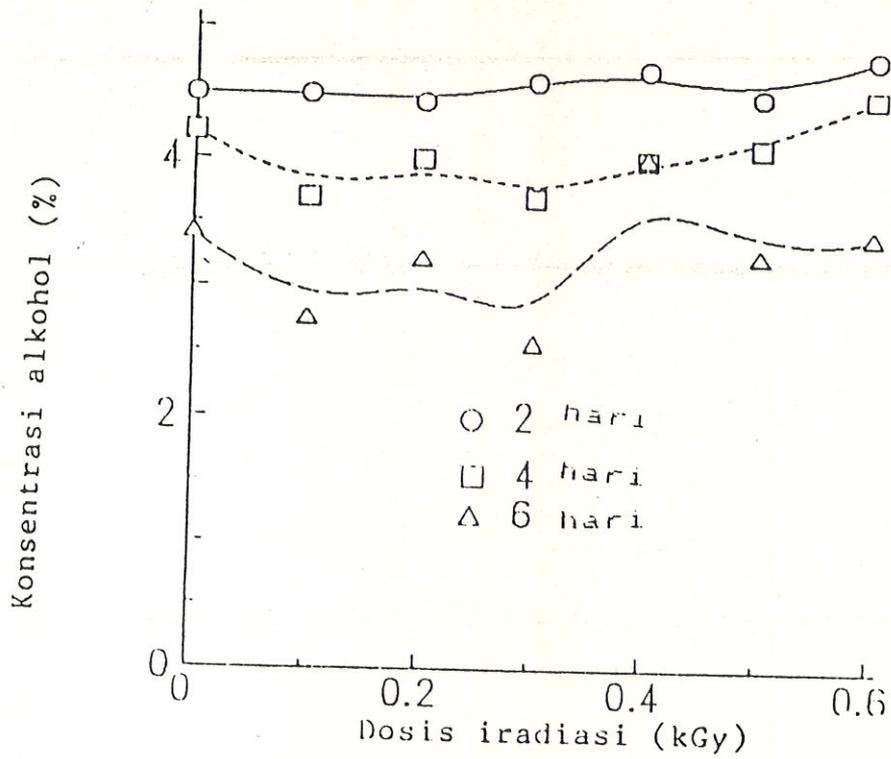
10. GBEDEMAH, C.H., and AWAFO, V., The effect of gamma radiation on the cellulolytic, pectinolytic and amylolytic enzyme activity of some "Garri" fermenting microorganism, A Technical Document issued by the International Atomic Energy Agency, Vienna, (1990).



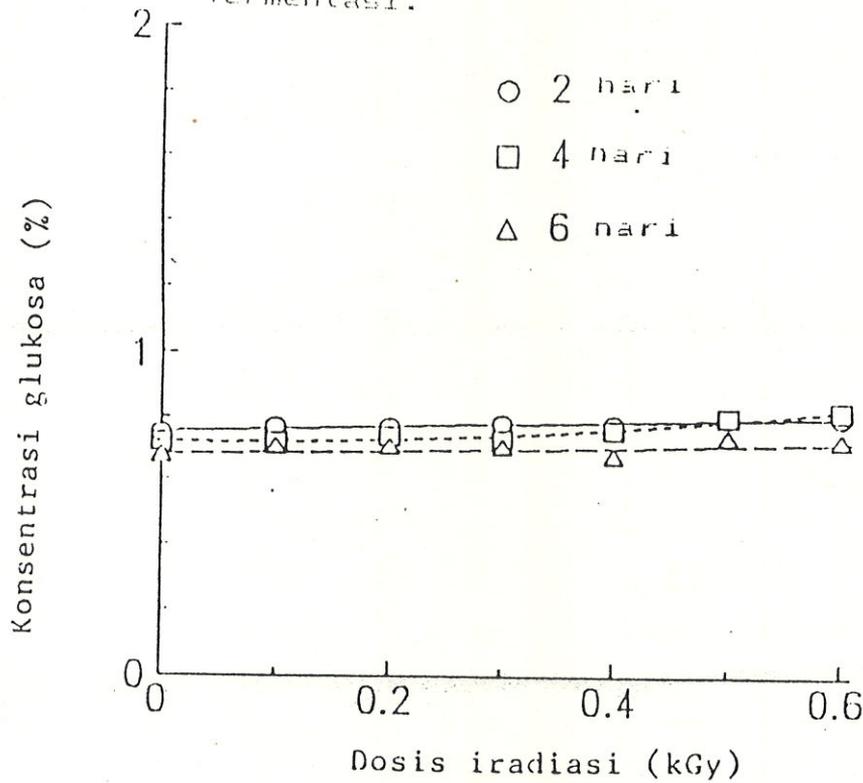
Gambar 1. Pengaruh iradiasi pada jumlah bakteri dalam inokulum.



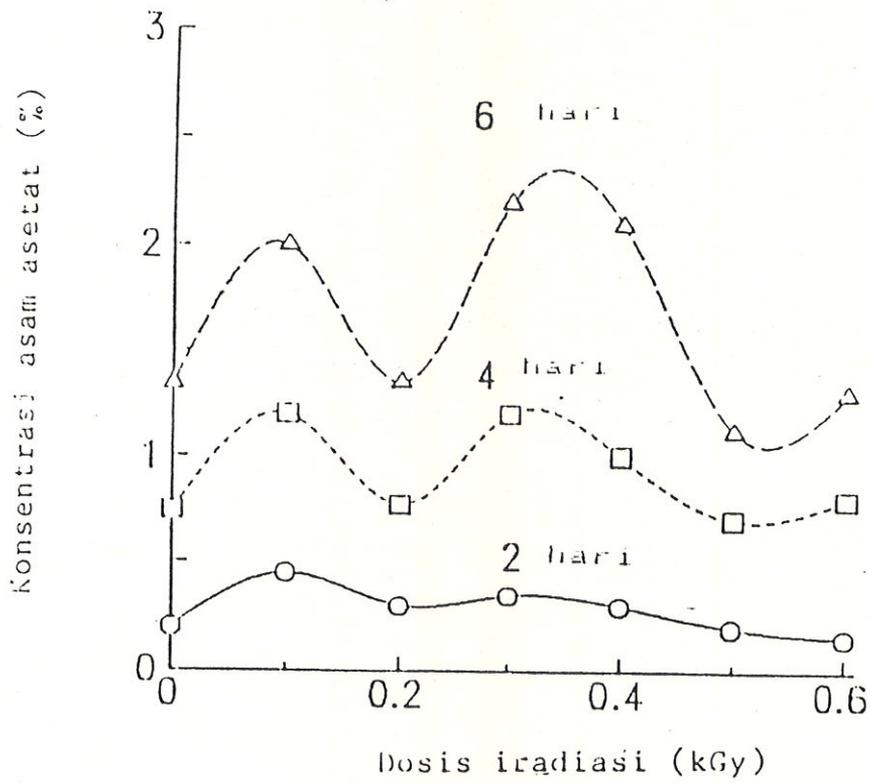
Gambar 2. Pengaruh iradiasi pada jumlah bakteri dalam substrat sebelum dan sesudah fermentasi.



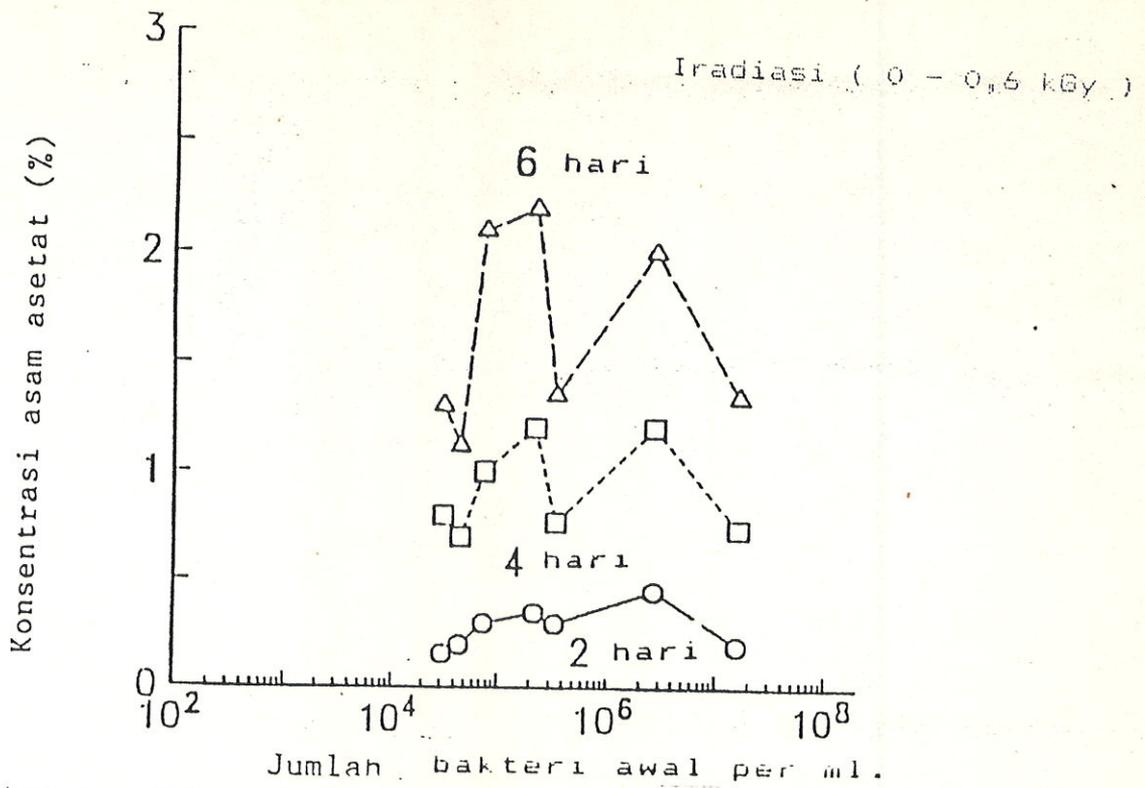
Gambar 3. Pengaruh bakteri iradiasi pada konsentrasi alkohol dalam substrat selama proses fermentasi.



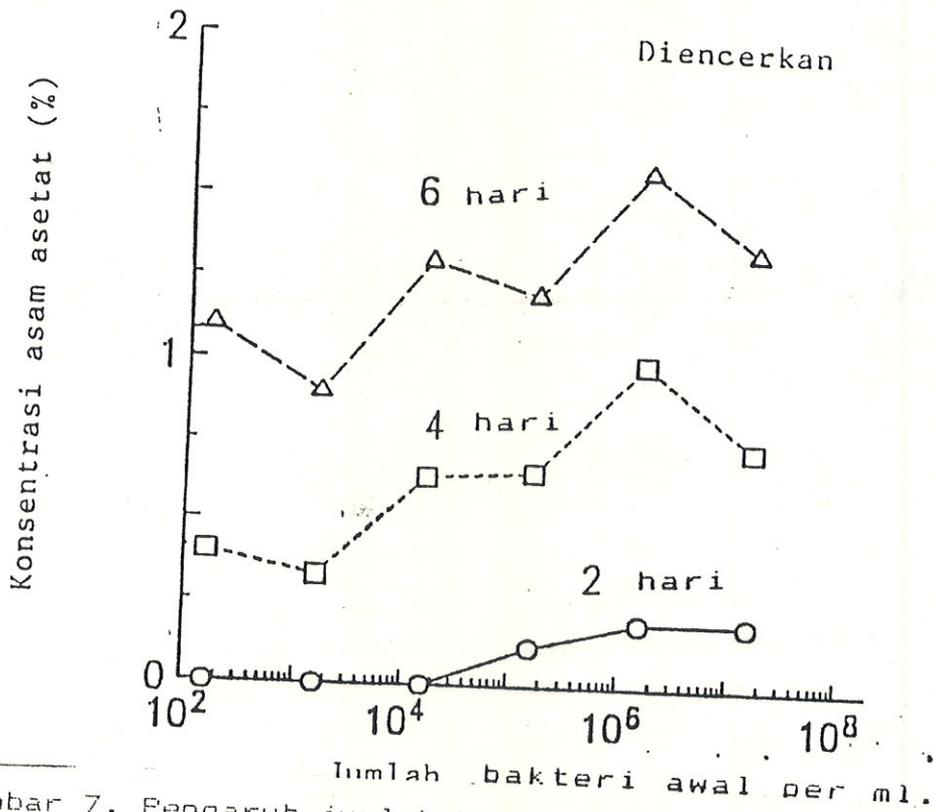
Gambar 4. Pengaruh bakteri iradiasi pada konsentrasi glukosa dalam substrat selama proses fermentasi.



Gambar 5. Pengaruh bakteri iradiasi pada pembentukan asam asetat selama proses fermentasi.



Gambar 6. Pengaruh jumlah bakteri yang diiradiasi dengan dosis 0 - 0,6 kGy pada pembentukan asam asetat.



Gambar 7. Pengaruh jumlah bakteri yang tidak diiradiasi pada pembentukan asam asetat.