Produksi Biobutanol dari Tetes Tebu Menggunakan *Clostridium acetobutylicum* B530 Dalam Reaktor *Batch* Yang Terhubung Unit Pelucut Gas

Aswin Hindami Zaradini[1,b)], Elvi Restiawaty [1,2,a)]

[1]Laboratorium Instruksional II
Program Studi S1 Rekayasa Hayati
Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung
Jl. Let. Jend. Purn. Dr. (HC) Mashudi, Nomor 1, Sumedang-Jawa Barat, Indonesia, 45363

[2]Laboratorium Biokonversi
Pusat Penelitian Biosains dan Bioteknologi, Institut Teknologi Bandung
Jl. Ganesha no. 10 Bandung, Indonesia, 40132

[a)] erestiawaty@sith.itb.ac.id (*corresponding author*)
[b)] aswin.hindami@students.itb.ac.id

Abstrak

Sistem fermentasi yang dilengkapi dengan pelucut gas digunakan pada penelitian ini. Pelucut gas tersebut diyakini dapat memulihkan perolehan produk fermentasi yang bersifat volatil. Adapun sistem fermentasi yang digunakan pada penelitian ini adalah sistem fermentasi dengan substrat tetes tebu menggunakan agen hayati Clostridium acetobutylicum B530 untuk produksi senyawa aseton, butanol, dan etanol. Fermentor batch dengan sistem gas-stripping menggunakan botol Erlenmeyer berukuran 1000 mL sebagai reaktor berisi medium Reinforce Clostridia Medium yang dimodifikasi dan dihubungkan pada kondensor dan sistem sirkulasi gas dilengkapi pompa peristaltik dua putaran. Rancangan fermentor dilakukan pada siklus fermentasi pada suhu inkubasi 35°C selama 95 jam dengan empat jenis perlakuan yaitu medium RCM dengan konsentrasi gula total 5 g/L, 62 g/L, dan tetes tebu 6% (w/v) dan penambahan $FeSO_4.7H_2O$ 30 ppm dengan konsentrasi inokulum 0,23 g/L (OD_{600} 0,58), serta tetes tebu 6% (w/v) dengan penambahan $FeSO_4.7H_2O$ 30 ppm dan asam butirat 2% (v/v) dan konsentrasi inokulum 1,375 g/L (OD_{600} 3,5). Analisis kurva pertumbuhan C. acetobutylicum B530 pada empat variasi medium berdasarkan laju pertumbuhan spesifik bakteri. Fenomena acid crash terjadi pada variasi medium RCM modifikasi dengan tetes tebu 6 % (w/v) dengan penambahan larutan FeSO4.7H2O sebesar 30 ppm dan asam butirat sebesar 2% (v/v) Produk yang terbentuk pada waktu fermentasi ke 95 jam pada empat perlakuan berupa asam asetat, asam butirat, dan butanol dianalisis dengan High Performance Liquid Chromatography.

Kata-kata kunci: Fermentasi aseton-butanol-etanol, C. acetobutylicum B530, Sistem pelucut gas

PENDAHULUAN

Peningkatan kebutuhan bahan bakar fosil merupakan isu yang belum terpecahkan. Kondisi ini diperburuk dengan menurunnya produksi bahan bakar fosil di dunia yang mengakibatkan adanya lonjakan harga. Produksi bahan kimia dan bahan bakar dari sumber daya terbarukan telah meningkat akibat munculnya perhatian terhadap isu pemanasan global dan perubahan iklim, fluktuasi produksi bahan bakar fosil, ketidakstabilan harga bahan bakar fosil yang mempengaruhi kebijakan mengenai bahan bakar. Salah satu bahan baku yang potensial digunakan adalah produk samping produksi gula tebu berupa tetes tebu yang mengandung kurang lebih 50-55% gula pereduksi (sukrosa, fruktosa, glukosa) dan menjadi sumber karbon

utama dalam produksi bahan bakar berbasis biomassa [9]. Tetes tebu dipilih sebagai sumber karbon sebab harga yang relatif murah, mudah dioperasikan dalam bentuk cair dan tidak membutuhkan perlakuan awal berupa hidrolisis [9].

Diantara energi alternatif yang telah dikembangkan, biobutanol merupakan bahan bakar yang menjanjikan karena memiliki sifat yang mirip dengan bahan bakar bensin. Butanol memiliki rantai karbon yang lebih panjang daripada etanol sehingga memiliki angka volatilitas, angka pembakaran dan nilai oktan yang lebih tinggi. Butanol dapat mengurangi biaya pemakaian material antikorosi saat distribusi dan aman terhadap mesin [15]. Kendala dalam produksi butanol adalah sumber bahan baku mahal, produktivitas perolehan rendah, serta adanya inhibisi pertumbuhan inokulum oleh produk fermentasi.

Hambatan terbesar terkait fermentasi aseton-butanol-etanol (ABE) dengan *Clostridium* acetobutylicum adalah toksisitas produk fermentasi yang dapat menjadi penghambat pertumbuhan inokulum. Alternatif solusi yang dapat dilakukan adalah pemisahan produk butanol secara in situ melalui beberapa teknik pemisahan cair-cair yaitu *pervaporation* [5][13][14], *perstraction* [14], *reverse osmosis* [4], adsorpsi [10], ekstraksi cair-cair [2] and pelucut gas [5].

Sistem pelucut gas merupakan teknik yang menyediakan banyak keuntungan jika dibandingkan dengan teknologi pemisahan lain. Keuntungan yang dapat diperoleh adalah teknologi yang sederhana dan memiliki biaya operasi yang rendah serta aman dari penyumbatan akibat peningkatan biomassa [3]. Sistem pelucut gas merupakan teknik resirkulasi produk volatil dari medium fermentasi dan produk berbentuk gas dialirkan kembali ke fermentor dengan menggunakan pompa dan produk volatil akan dikondensasi dan ditampung di dalam *flask* [3]. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh penggunaan teknik pelucut gas terhadap produksi butanol dengan menggunakan agen hayati *C.acetobutylicum* B530. Pada penelitian ini, sistem pelucut gas dipilih sebagai unit pemisahan in situ karena dapat dioperasikan pada skala laboratorium sebagai pengembangan awal sistem pemisahan in situ.

BAHAN DAN METODE

Mikroorganisme dan pemeliharaan

Kultur bakteri *Clostridium acetobutylicum* B530 diperoleh dari ARS (*Agricultural Research Service*) *Culture Collection*, *National Center for Agricultural Utilization Reasearch* (NRRL), USA. *C. acetobutylicum* B530 ditumbuhkan pada *reinforced clostridial media* (RCM) dengan komposisi penyusun meliputi 10 g/L ekstrak daging sapi (Oxoid Ltd, Inggris), 3 g/L ekstrak ragi (Himedia, India), 5 g/L D-glukosa (Bio Basic Canada Inc, Kanada), 5 g/L NaCl (Bio Basic Canada Inc, Kanada), 1 g/L pati terlarut (Bio Basic Canada Inc, Kanada), 0,5 g/L sistein-HCl (Bio Basic Canada Inc, Kanada), 3 g/L CH_3COONa (Bio Basic Canada Inc, Kanada), dan 5 g/L pepton (Bio Basic Canada Inc, Kanada) dengan pH 5. Medium pertumbuhan dimasukan ke dalam botol vial berukuran 50 mL yang ditutup menggunakan sumbat karet butil dengan menggunakan mikropipet 5000 μL sebanyak 30 mL. Botol vial berisi medium RCM disterilisasi dengan menggunakan *autoclave* pada T = 121°C dan P = 1,5 kg/cm^2 selama 20 menit. Inokulum dimasukan ke dalam medium steril sebanyak 10% (v/v) dengan konsentrasi inokulum 0,23 g/L (OD_{600} 0,58).

Perlakuan awal tetes tebu

Tetes tebu yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari PT. Indo Acidatama TBK (Karanganyar, Jawa Tengah). Perlakuan awal dilakukan untuk menghilangkan komponen inhibitor seperti material koloid, abu, dan material terlarut lainnya yang dapat mengganggu pertumbuhan mikroorganisme (Kotzamanidis, 2002). Konsentrasi tetes tebu yang digunakan dalam penelitian ini adalah 6 % (w/v) dalam 800 mL aquades, kemudian ditambahkan H_2SO_4 12 M hingga mencapai pH 3.5. Larutan diletakan pada penangas air dengan suhu 60°C selama 2 jam. Larutan disentrifugasi pada 8000 rpm selama 20 menit. Supernatan dipisahkan dengan menggunakan kertas saring. Tetes tebu yang telah diberi perlakuan awal ditambahkan NaOH 1 M hingga mencapai pH 6,5 dan disimpan dalam botoh Scoth 1000 mL pada suhu 20°C sebelum digunakan. [9]

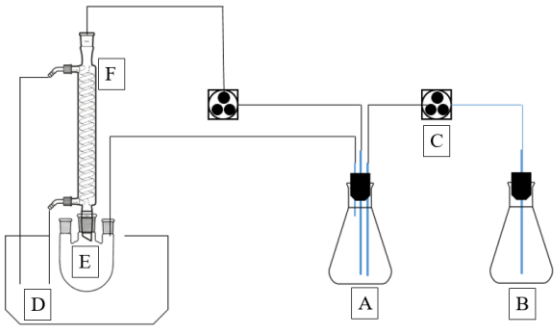
Persiapan medium fermentasi

Medium fermentasi dibagi menjadi empat jenis yaitu medium yang mengandung 5 g/L D-glukosa murni (variasi 1), medium modifikasi dengan konsentrasi gula total sebesar 62 g/L dengan perbandingan glukosa : fruktosa : sukrosa sebesar 14 : 16 : 32 (variasi 2), medium modifikasi yang mengandung 6% (w/v) molasse tebu (variasi 3), dan penambahan larutan $FeSO_4.7H_2O$ sebesar 30 ppm, medium modifikasi yang mengandung 6% (w/v) molasse tebu dengan penambahan larutan $FeSO_4.7H_2O$ sebesar 30 ppm dan asam butirat 2% (v/v)

(variasi 4). Empat jenis medium tersebut dicampurkan dengan medium RCM dengan komposisi (g/L) : 10 g/L ekstrak daging sapi, 3 g/L ekstrak ragi, 5 g/L D-glukosa, 5 g/L NaCl, 1 g/L pati terlarut, 0,5 g/L sistein-HCl, 3 g/L CH_3COONa, dan 5 g/L pepton dengan pH awal medium 5.

Fermentasi dalam reaktor batch dengan sistem pelucut gas

Proses fermentasi dalam reaktor *batch* dengan sistem pelucut gas dilakukan dengan empat jenis medium yaitu *reinforce clostridial media* (RCM) dengan konsentrasi glukosa sebesar 5 g/L, RCM modifikasi dengan konsentrasi gula total sebesar 62 g/L, RCM modifikasi dengan konsentrasi tetes tebu 6 % (w/v) dan penambahan larutan $FeSO_4.7H_2O$ sebesar 30 ppm dengan ukuran inokulum sebesar OD_{600} 0,58 (konsentrasi inokulum 0,23 g/L), dan RCM modifikasi dengan tetes tebu dengan konsentrasi 6 % (w/v), penambahan larutan $FeSO_4.7H_2O$ sebesar 30 ppm dan asam butirat 2% (v/v) dengan ukuran inokulum OD_{600} 3,5 (konsentrasi inokulum 1,375 g/L). Medium disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Medium steril dimasukan ke dalam reaktor dengan volume 1000 mL. Fermentor dengan sistem pelucut gas diinstalasi seperti gambar 2.1.



Gambar 1. Rancangan fermentor dengan sistem pelucut gas. A = fermentor utama; B = medium segar; C = pompa peristaltic; D = larutan pendingin; E = penampung kondensat; F = kondensor

Gas N_2 dimasukan ke medium fermentasi pada reaktor 1000 mL dengan tujuan untuk mencapai kondisi anaerobik selama 20 menit. Temperatur fermentasi dijaga sebesar 35°C dengan sistem penangas air. Sistem pelucut gas dioperasikan pada jam ke 14 dengan menggunakan pompa peristaltik berkepala ganda dengan laju alir gas 1,175 mL/s. Etilen glikol 20% dengan suhu 10°C digunakan sebagai sistem pendingin pada pelucut gas. Waktu kerja pada tahap fermentasi adalah 95 jam. Sampel diambil dengan menggunakan jarum suntik steril sebanyak 5 mL dan disimpan dalam tabung Falcon ukuran 15 mL pada suhu -20°C.

Pengukuran konsentrasi biomassa C. acetobutylicum B530

Konsentrasi sel biomassa ditentukan dengan besaran densitas optik (OD) pada 600 nm menggunakan spektrofotometer. Suspensi sel diencerkan tiga kali dengan medium yang tidak berisi biomassa sel. Medium berisi biomassa yang telah diencerkan, dimasukan ke kuvet sebanyak 3 mL dengan mikropipet *Eppendorf* 1000 µL. Kuvet dimasukan ke dalam spektrofotometer untuk analisis nilai densitas optik. Nilai densitas optik dikonversi menjadi konsentrasi sel dengan persamaan kurva baku densitas optik terhadap konsentrasi sel.

Pengukuran pH medium

Analisis pH dilakukan dengan menggunakan pH meter *eutech instruments* pH 510. Sampel yang akan diukur, disiapkan sebanyak 5 mL. *Probe* pada pH-meter dimasukan ke tabung berisi medium untuk pengukuran tingkat keasaman dan akan terbaca nilai pH di layar digital pada pH-meter.

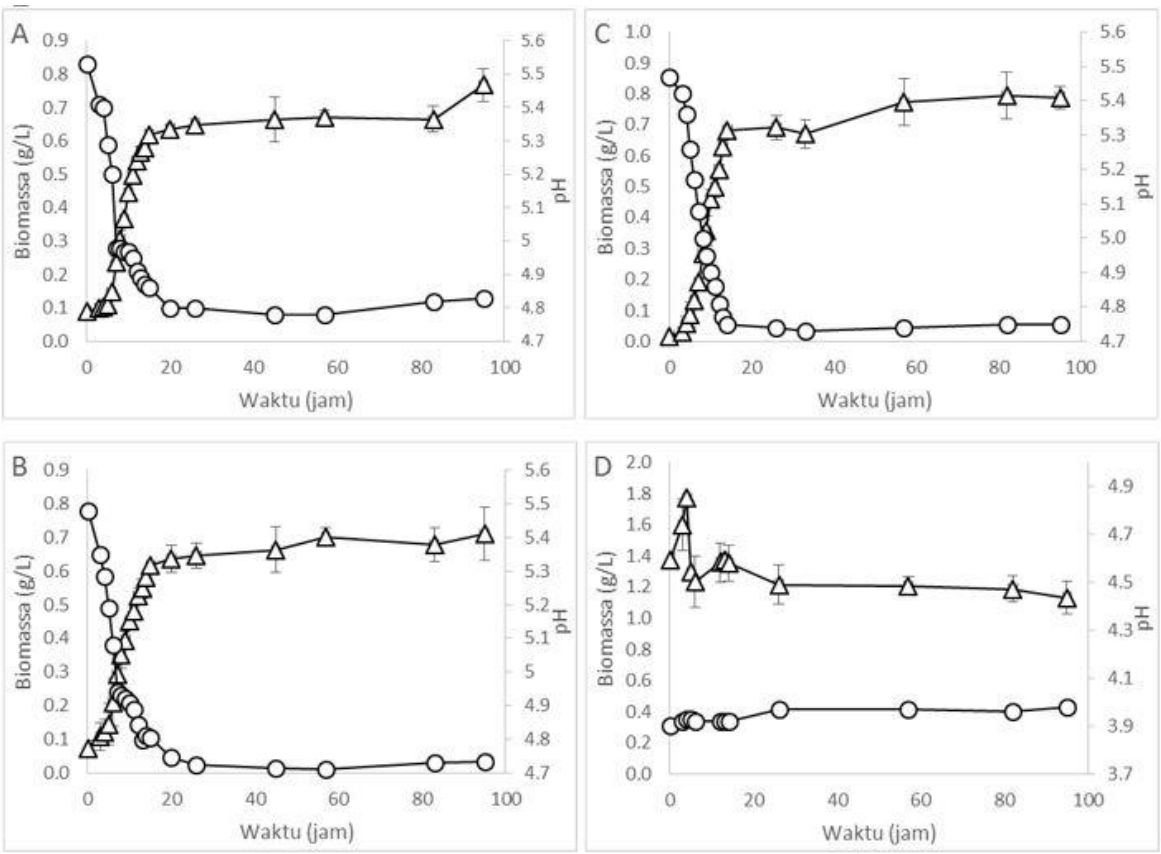
Analisis

Analisis konsentrasi glukosa total dan produk fermentasi dilakukan dengan HPLC *refractive index detector* (RID) *Waters* 2414 dengan kolom Aminex HPX87H (biorad, CA) *autosampler* waters 2707 pada kondisi temperature 60°C dengan fasa gerak H_2SO_4 0,005 M dan laju alir 0,6 ml/menit.

HASIL

Evaluasi Pertumbuhan *C. acetobutylicum* B530

Penelitian ini menggunakan bakteri *C. acetobutylicum* B530 sebagai agen biokonversi dan menjadi sistem yang diamati. Proses fermentasi dilakukan secara *batch* dengan sistem pelucut gas dengan volume 1000 mL pada temperature 35ºC. Proses dilakukan dalam kondisi anaerob dengan mengalirkan gas N_2 ke dalam medium fermentasi selama 20 menit. Proses fermentasi berlangsung selama 95 jam dengan hasil yang ditunjukan pada gambar 2.



Gambar 2 Kurva pertumbuhan sel C. acetobutylicum B530 pada : A. gula total 5 g/L , B.gula total 62 g/L, C. tetes tebu 6% + $FeSO_4.7H_2O$ 30 ppm, D. C. tetes tebu 6% + $FeSO_4.7H_2O$ 30 ppm + asam butirat 2%

Laju pertumbuhan spesifik dan waktu penggandaan bakteri *C. acetobutylicum* B530 selama proses fermentasi aseton-butanol-etanol ditunjukan pada tabel 2.

Tabel 1. Laju pertumbuhan spesifik dan waktu penggandaan pada fermentasi dengan sistem pelucut gas

Variasi	μ (jam^{-1})	Waktu penggandaan (jam)
Medium RCM gula total 5 g/L	0,375	1.848
Medium RCM gula total 62 g/L	0,2711	2.56
Medium RCM modifikasi tetes tebu 6% (w/v) + FeSO4.7H2O 30 ppm	0.4036	1,717

Medium RCM modifikasi tetes tebu 6% (w/v) + FeSO4.7H2O 30 ppm + asam butirat 2% (v/v)	0,0606	11,44

Laju pertumbuhan pada RCM modifikasi dengan tetes tebu 6 % (w/v) dan penambahan larutan $FeSO_4.7H_2O$ sebesar 30 ppm lebih tinggi dibandingkan dengan variasi lain. Hal ini disebabkan karena adanya komposisi mikroprotein yang lebih baik daripada medium sintetik. Pada tetes tebu, terdapat beberapa mikronutrien seperti biotin dan senyawa nitrogen yang mencapai 10% komposisi tetes tebu dan tidak terkandung dalam medium RCM (Syed, 1994). Berdasarkan kurva pertumbuhan dari empat variasi yang dilakukan, variasi RCM modifikasi dengan tetes tebu 6 % (w/v) dengan penambahan larutan $FeSO_4.7H_2O$ sebesar 30 ppm dan asam butirat 2% (v/v) memiliki laju pertumbuhan yang paling kecil yaitu 0,0606 [g sel/(jam.g sel)]. Kurva pertumbuhan pada variasi ini tidak memiliki fase logaritmik dan eksponensial, pertumbuhan inokulum cenderung stasioner dan menuju ke fase kematian pada jam ke 80. Salah satu faktor yang menyebabkan terhambatnya pertumbuhan inokulum adalah fenomena *acid crash* yaitu laju akumulasi asam asetat dan asam butirat yang tinggi pada medium fermentasi. Tingkat keasaman medium dengan rentang 3.9-3.97 menjadi salah satu parameter kualitatif yang menjelaskan fenomena *acid crash*. Fenomena *acid crash* pada variasi ini disebabkan karena adanya penambahan asam butirat 2% (v/v) pada medium dan konsentrasi awal inokulum yang tinggi yaitu 1,375 g/L (OD_{600} 3,5) sehingga laju konsumsi gula yang cepat dan menyebabkan produksi asam asetat dan asam butirat yang tinggi per satuan waktu. Fenomena *acid crash* terjadi pada penelitian Wang [18], dimana inhibisi pertumbuhan inokulum *C. acetobutylicum* disebabkan oleh tiga jenis asam yang berbeda yaitu asam format, asam butirat, dan asam asetat.

Pada penelitian ini, tidak diketahui konsentrasi asam format yang terbentuk sehingga diskusi difokuskan pada pengaruh konsentrasi asam asetat dan asam butirat terhadap pertumbuhan inokulum. Wang [18] menyatakan bahwa konsentrasi inhibisi asam asetat dan asam butirat berturut-turut memiliki rentang 1,72 mM-2,28 mM (pH 3,71) dan 2.16 mM-2.7 mM (3,68).

Analisis Produk Fermentasi Aseton-Butanol-Etanol secara Batch dengan Sistem Pelucut gas

Pada penentuan konsentrasi produk aseton-butanol-etanol yang terbentuk, tingkat keasaman medium (pH) menjadi salah satu parameter kualitatif untuk mengetahui kondisi fermentasi. Dalam tinjauan pustaka dijelaskan bahwa fermentasi ABE memiliki dua fase yaitu fase asidogenik dan fase solventogenik. Pada fase asidogenik, dihasilkan senyawa asam karboksilat seperti asam asetat dan asam butirat yang digunakan sebagai *building block* dalam pembentukan produk ABE. Hal ini ditandai oleh penurunan tingkat keasaman (pH) medium secara signifikan akibat konversi substrat menjadi senyawa asam karboksilat. Konsentrasi senyawa asam karboksilat mencapai suatu kondisi yang melewati batas toleransi lingkungan pada adaptasi bakteri *C. acetobutylicum* B530 dan menyebabkan adanya respon dari bakteri berupa metabolisme reaksi reduksi senyawa asam kabroksilat menjadi butanol dan etanol untuk menaikan pH medium hingga berada di batas toleransi bakteri *C. acetobutylicum* B530. Kondisi ini yang disebut dengan fase solventogenik. Pada tabel 2 ditunjukan konsentrasi produk yang terbentuk pada empat variasi fermentasi pada penelitian ini.

Produk fermentasi berupa asam asetat dan asam butirat dihasilkan pada setiap variasi medium dalam penelitian ini. Konsentrasi asam asetat dan asam butirat pada variasi (1), (2), dan (3) tidak berbeda secara signifikan. Hal ini disebabkan karena konsentrasi sel awal yang dimasukan ke dalam medium pada ketiga variasi tersebut sama besar. Akan tetapi, produk utama fermentasi berupa aseton, butanol, dan etanol belum dihasilkan fermentasi pada variasi (1), (2), dan (3). Produksi aseton, butanol, dan etanol pada metabolisme *C. acetobutylicum* B530 sangat bergantung pada konsentrasi asam asetat dan asam butirat yang dihasilkan. Terdapat batas minimum konsentrasi asam asetat dan asam butirat yang dapat mendorong metabolisme *C. acetobutylicum* B530 dari fase asidogenik menjadi fase solventogenik. Fase solventogenik terjadi ketika konsentrasi asam asetat dan asam butirat dalam medium fermentasi mencapai kondisi dimana dapat menginduksi *C. acetobutylicum* B530 untuk menghasilkan produk aseton-butanol-etanol sebagai salah satu proses detoksifikasi akibat adanya akumulasi asam asetat dan asam butirat yang menyebabkan timbulnya kondisi yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri [8]. Dalam kondisi ini, metabolisme *C. acetobutylicum* B530 mengkonversi aseton menjadi asetoasetat dan menjadi asetil KoA untuk memproduksi etanol dan butanol [1]. Konsentrasi asam asetat dan asam butirat dalam medium variasi (1), (2), dan (3) belum dapat menginduksi produksi aseton, butanol, dan etanol.

Tabel 2. Konsentrasi produk yang terbentuk pada fermentasi aseton-butanol-etanol pada jam ke 95

Variasi	Konsentrasi awal inokulum (g/L)	Fermentor (batch) (g/L)				Penampung pelucut gas (g/L)			
		Asam asetat	Asam butirat	Etanol	Butanol	Asam asetat	Asam butirat	Etanol	Butanol
Medium RCM gula total 5 g/L	0,23	1,403	1,078	-	-	-	-	-	-
Medium RCM gula total 62 g/L	0,23	1,561	0,936	-	-	-	-	-	-
Medium RCM modifikasi tetes tebu 6% (w/v) + FeSO4.7H2O 30 ppm	0,23	1,425	1,049	-	-	-	-	-	-
Medium RCM modifikasi tetes tebu 6% (w/v) + FeSO4.7H2O 30 ppm + asam butirat 2% (v/v)	1,375	1,337	7,387	-	-	0,159	0.319	-	-

ISBN: 978-602-61045-0-2

Hasil yang diperoleh pada variasi (1), (2), dan (3) menjadi evaluasi untuk dilakukannya variasi (4). Fermentasi pada variasi (4) menggunakan penambahan asam butirat 2% (v/v) untuk menginduksi metabolisme *C. acetobutylicum* B530 dari fase asidogenik menjadi fase solventogenik. Penggunaan inokulum dengan konsentrasi awal yang lebih tinggi yaitu 1,375 g/L (OD_{600} 3,5) dilakukan untuk meningkat jumlah konsumsi substrat berupa glukosa dalam medium sehingga terjadi akumulasi asam asetat dan asam butirat yang lebih banyak dari variasi (1), (2), dan (3) sehingga dapat menginduksi fase solventogenik dalam waktu yang lebih cepat. Konsentrasi asam asetat dan asam butirat yang dihasilkan setelah 95 jam pada variasi (4) secara berurutan adalah 1,337 g/L dan 7,387 g/L.

Konsentrasi asam butirat yang dihasilkan pada fermentasi ini sudah melebihi konsentrasi minimal untuk menginduksi fase solventogenik *C. acetobutylicum* B530 yaitu 2 g/L [8] namun produk utama fermentasi berupa butanol, belum dihasilkan. Fenomena *acid crash* yang terjadi pada variasi (4) yang menyebabkan butanol tidak diproduksi. Fenomena ini disebabkan oleh tingginya konsentrasi sel awal pada variasi (4) sehingga laju produksi asam pada fase asidogenik menjadi tinggi dan konsentrasi asam yang terakumulasi dapat mengganggu metabolisme *C. acetobutylicum* B530. Konsentrasi asam butirat yang tinggi ditunjukan dengan perubahan pH medium menjadi 3,9 sedangkan kondisi optimal medium untuk memproduksi butanol berada pada pH 5.

Konsentrasi asam butirat yang tinggi dan diluar ambang toleransi bakteri *C. acetobutylicum* B530 dapat menyebabkan adanya gangguan gradient pH pada membrane sel bakteri. Perubahan gradient pH yang tinggi menurunkan rasio konsentrasi NTP/NDP sehingga menimbulkan inhibisi pada seluruh fungsi metabolisme sel [6][7]. Asam asetat dan asam butirat yang bersifat nonpolar dapat melalui membran sel pada pH rendah terpisah karena pH di dalam sel yang lebih tinggi. Proton dalam sel dilepas secara simultan dan menimbulkan gaya gerak proton yang dapat meningkatkan kebutuhan energi untuk menjaga pH di dalam sel. Penyerapan asam asetat dan asam butirat oleh sel dapat menurunkan ketersediaan koenzim A dan ion fosfat sehingga dapat menurunkan fluks glukosa menuju glikolisis dan menurunkan perolehan aseton, butanol, dan etanol [8].

Pada variasi (1), (2), dan (3), sistem pelucut gas yang digunakan pada fermentasi *batch* aseton-butanol-etanol belum dapat memisahkan produk fermentasi dalam bentuk kondensat. Kondisi sistem pelucut gas pada variasi (1), (2), dan (3) adalah penggunaan akuades dengan T = 20°C.

Sistem pelucut gas dievaluasi pada variasi (4) dimana larutan pendingin yang digunakan adalah etilen glikol 20% (v/v) dengan suhu dikontrol pada T = 10°C. Variasi (4) dapat mengkondensasi 0,7 mL larutan dengan konsentrasi produk asam asetat dan asam butirat berurutan 0,159 g/L dan 0,319 g/L. Temperatur kondensasi pada penelitian ini cukup jauh berbeda dengan penelitian yang dilakukan Qureshi [13] dimana temperatur kondensasi optimal untuk sistem pelucut adalah -4°C sampai -10°C. Permasalahan utama pada sistem kondensor sistem pelucut gas adalah menjaga temperatur kondensasi. Pada penelitian ini, fluktuasi temperature kondensasi disebabkan karena adanya kalor yang terdisipasi dari sistem pompa larutan pendingin yang digunakan.

KESIMPULAN DAN REKOMENDASI

Konsentrasi asam asetat dan asam butirat pada variasi (1), (2), dan (3) yang belum optimal menyebabkan fase solventogenik belum dicapai. Fenomena *acid crash* yang terjadi pada variasi (4) menimbulkan adanya gangguan pada metabolisme *C. acetobutylicum* B530 sehingga menggangu pertumbuhan bakteri dan menyebabkan produk aseton-butanol-etanol belum dihasilkan. Konsentrasi produk fermentasi dalam medium mempengaruhi kinetika pertumbuhan bakteri *C. acetobutylicum* B530. Teknik pemisahan *in situ* berupa sistem pelucut gas diperlukan untuk menghindari adanya inhibisi pertumbuhan bakteri dan penurunan perolehan produk oleh produk fermentasi (asam asetat, asam butirat, aseton, butanol, dan etanol). Sistem pelucut gas pada fermentasi variasi RCM modifikasi dengan tetes tebu 6 % (w/v) dengan penambahan larutan $FeSO_4.7H_2O$ sebesar 30 ppm dan asam butirat 2% (v/v) dapat memisahkan 0.7 mL kondensat dengan komposisi asam asetat 0,159 g/L dan asam butirat 0,319 g/L.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didukung oleh ARS (*Agricultural Research Service*) *Culture Collection*, *National Center for Agricultural Utilization Reasearch* (NRRL), USA sebagai penyedia kultur *C. acetobutylicum* B530 dan PT. Indo Acidatama sebagai penyedia substrat tetes tebu. Ucapan terima kasih kepada Program Riset ITB atas dana bantuan riset.

REFERENSI

1. Andersch, W., Bahl, H., & Gottschalk, G. (1982). Acetone-butanol production by Clostridium acetobutylicum in an ammonium-limited chemostat at low pH values. *Biotechnology Letters*, *4*(1), 29-32.
2. Evan, P. J., and Wang, H. Y. (1988). Enhancement of butanol formation by Clostridium acetobutylicum in the presence of decanol-olely alcohol mixed extractants. Appl. Environ. Microbiol. 54: 1662-1667.
3. Ezeji, T.C., Qureshi, N., Blaschek, H.P. (2004) Acetone butanol ethanol (ABE) production from concentrated substrate: reduction in substrate inhibition by fed-batch technique and product inhibition by gas stripping. *Appl Microbiol Biotechnology* 63:653–658.
4. Garcia, A., Iannotti, E.L., Fischer, J.L. (1986) Butanol fermentation liquor production and separation by reverse osmosis. *Biotechnol Bioengineering* 28:785–791.
5. Groot, W.J., van den Oever, C,E., Kossen, N.W.F. (1984) Pervaporation for simultaneous product recovery in the butanol/isopropanol batch fermentation. *Biotechnol Lett* 6:709–714.
6. Herrero, A. A. (1983). End-product inhibition in anaerobic fermentations. *Trends in Biotechnology*, *1*(2), 49-53.
7. Herrero, A. A., Gomez, R. F., Snedecor, B., Tolman, C. J., & Roberts, M. F. (1985). Growth inhibition of Clostridium thermocellum by carboxylic acids: a mechanism based on uncoupling by weak acids. *Applied microbiology and biotechnology*, *22*(1), 53-62.
8. Jones, D. T., & Woods, D. R. (1986). Acetone-butanol fermentation revisited.*Microbiological reviews*, *50*(4), 484.
9. Ni, Y., Wang, Y., & Sun, Z. (2012). Butanol production from cane molasses by Clostridium saccharobutylicum DSM 13864: batch and semicontinuous fermentation. *Applied biochemistry and biotechnology*, *166*(8), 1896-1907.
10. Nielson, L., Larsson. M., Holst, O., Mattiasson, B. (1988) Adsorbents for extractive bioconversion applied to the acetone butanol fermentation. *Appl Microbiol Biotechnol* 28:335–339.
11. Syed, Q. 1994. *Biochemical Studies on Anaerobic Fermentation of Molasse by Clostridium acetobutyliticum*. Tesis. Program Doktor Universitas Punjabi. Pakistan.
12. Purwadi, R., Rasendra, C.B., Restiawaty, E., Sukma, M.S., Chintyarani, A.M. (2015). Pengembangan Metode Kultivasi *solventogenic clostridia* untuk proses produksi biobutanol. Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia Indonesia 2015, Yogyakarta, 12-13 Oktober 2015.
13. Qureshi, N., Blaschek, H.P. (1999) Butanol recovery from model solution/fermentation broth by pervaporation: evaluation of membrane performance. *Biomass and Bioenergy* 17:175–184.
14. Qureshi, N., Maddox, I.S., Friedl, A. (1992) Application of continuous substrate feeding to the ABE fermentation: relief of product inhibition using extraction, perstraction, stripping, and pervaporation. *Biotechnol Prog* 8:382–390.
15. Tracy, B. P., Jones, S. W., & Papoutsakis, E. T. (2011). Inactivation of σE and σG in Clostridium acetobutylicum illuminates their roles in clostridial-cell-form biogenesis, granulose synthesis, solventogenesis, and spore morphogenesis.*Journal of bacteriology*, *193*(6), 1414-1426.
16. Van Ginkel, S., & Logan, B. E. (2005). Inhibition of biohydrogen production by undissociated acetic and butyric acids. *Environmental science & technology*,*39*(23), 9351-9356.
17. Visioli, L. J., Enzweiler, H., Kuhn, R. C., Schwaab, M., & Mazutti, M. A. (2014). Recent advances on biobutanol production. *Sustainable Chemical Processes*, *2*(1), 1.
18. Wang, S., Zhang, Y., Dong, H., Mao, S., Zhu, Y., Wang, R., ... & Li, Y. (2011). Formic acid triggers the "acid crash" of acetone-butanol-ethanol fermentation by Clostridium acetobutylicum. *Applied and environmental microbiology*, *77*(5), 1674-1680.