

Pengaruh Konsentrasi Peroksida Terhadap Produksi Biohidrogen Dari Limbah Buah Jeruk Melalui Metode Fermentasi Gelap

Atika Dwi Farini¹, Sarto², Suryo Purwono³

¹)Magister Teknik Pengendalian Pencemaran Lingkungan

²)³)Jurusan Teknik Kimia Universitas Gadjah Mada

E-mail: atikafarini@gmail.com

Abstrak

Proses fermentasi gelap (dark fermentation) memiliki beberapa kelebihan, yaitu dapat memproduksi gas hidrogen tanpa membutuhkan cahaya matahari, substrat yang digunakan bervariasi dan tidak membutuhkan biaya yang besar. Upaya untuk dapat menghasilkan gas hidrogen yang tinggi, salah satunya dengan merekayasa jalur metabolisme melalui penambahan agen radikal bebas yaitu hidrogen peroksida (H_2O_2). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan H_2O_2 pada inokulum campuran dari digester biogas dengan limbah buah jeruk sebagai substrat terhadap produksi hidrogen. Hidrogen peroksida dengan konsentrasi berbeda (0 mM, 0,2 mM, 0,4mM, 0,6mM, 0,8 mM) ditambahkan ke dalam fermentor (100mL) yang telah berisi inokulum campuran dan limbah buah jeruk. Penelitian dilakukan selama 7 hari pada kondisi anaerob dengan suhu 37^oC. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan hidrogen peroksida memberikan pengaruh yang cukup signifikan terhadap produksi hidrogen dibandingkan dengan tanpa penambahan hidrogen peroksida. Produksi tertinggi gas hidrogen dihasilkan pada penambahan H_2O_2 0,6 Mm dengan yield 801,14 ml.g/Vs. Selama proses fermentasi, Volatile Fatty Acid (VFA) yang dihasilkan yaitu asam asetat, yang dapat mempengaruhi produksi gas hidrogen. Dari hasil penelitian dapat diketahui bahwa apabila dihasilkan asam asetat yang tinggi, maka dapat menurunkan produksi hidrogen.

Kata kunci : fermentasi gelap, hidrogen, hidrogen peroksida, VFA

Abstract

The process of dark fermentation (dark fermentation) has several advantages, including being able to produce hydrogen gas without the need for sunlight, the substrate used varies and does not require a large cost. Efforts to produce high hydrogen gas, one of which is by engineering metabolic pathways through the addition of free radical agents, namely hydrogen peroxide (H_2O_2). This study aims to determine the effect of adding hydrogen peroxide (H_2O_2) to the mixed inoculum of the biogas digester with orange fruit waste as a substrate on hydrogen production. Hydrogen peroxide with different concentrations (0 mM, 0.2 mM, 0.4mM, 0.6mM, 0.8 mM) was added to the fermentor (100mL) which contained mixed inoculums and citrus fruit waste. The study was conducted for 7 days under anaerobic conditions at 37^oC. The results showed that the addition of hydrogen peroxide had a significant effect on hydrogen production compared to without the addition of hydrogen peroxide, so the addition of hydrogen peroxide at certain concentrations indicated an increase in hydrogen production. The highest production of hydrogen gas is produced at the addition of 0.6 Mm H_2O_2 with a yield of 801.14 ml.g / VS. During the fermentation process, Volatile Fatty Acid (VFA) produced is acetic acid that can affect the production of hydrogen gas. From the results of the study it can be seen that if high acetic acid is produced, it can reduce hydrogen production.

Keywords: dark fermentation, hydrogen, hydrogen peroxide, VFA

Dikirim/submitted: 16 Mei 2019

Diterima/accepted: 24 Mei 2019

1. PENDAHULUAN

Berbagai bahan bakar alternatif telah diusulkan untuk dapat menggantikan bahan bakar fosil. Dalam hal ini, hidrogen diakui sebagai salah satu bahan bakar alternatif yang menjanjikan di masa depan. Hal ini dikarenakan hidrogen merupakan gas yang ramah lingkungan, dimana hanya menghasilkan air ketika dibakar dan memiliki nilai kalori yang lebih tinggi (122 kJ/g), 2,75 kali lipat lebih tinggi dari pada bahan bakar hidrokarbon (Chang dkk., 2004 dan Kim dkk., 2006). Produksi utama hidrogen yaitu berasal dari gas alam, elektrolisis air, *steam reforming hydrocarbon* dan proses auto-termal, akan tetapi metode ini memerlukan biaya yang cukup banyak dan membutuhkan energi yang tinggi.

Produksi hidrogen secara biologi dengan memanfaatkan limbah untuk menghasilkan energi bersih membuat produksi hidrogen dengan metode ini lebih menjanjikan karena memiliki keuntungan yang signifikan dibandingkan dengan metode kimia, salah satunya dengan menggunakan metode fermentasi gelap. Kelebihan yang dimiliki dalam proses ini misalnya dapat memproduksi H₂ tanpa membutuhkan cahaya matahari, substrat yang digunakan bervariasi dan tidak membutuhkan biaya besar (Das dkk., 2008). Selain itu, melalui proses fermentasi gelap *yield* hidrogen yang dihasilkan akan lebih tinggi dari yang dihasilkan oleh proses fermentasi terang dan operasinya juga lebih mudah (Elsharnouby dkk., 2013).

Dalam konversi bahan-bahan organik menjadi hidrogen melalui fermentasi gelap (*dark fermentation*), salah satu substrat yang dapat dimanfaatkan yaitu *sludge* dari hasil produksi biogas. Substrat berbasis karbohidrat merupakan substrat yang paling baik, karena dapat menghasilkan *yield hidrogen* yang tinggi (Kim dkk., 2010). Akan tetapi, dalam prakteknya, terdapat hambatan berupa *yield* hidrogen yang rendah (dikarenakan terbentuknya biomassa, asam organik, dan gas CO₂) dan juga kecepatan pembentukan hidrogen yang rendah (Kapdan dkk., 2006). Keberhasilan dari proses fermentasi sangat bergantung pada karakteristik substrat bahan organik yang digunakan. Berbagai jenis komponen bahan organik termasuk lipid, protein dan karbohidrat dilaporkan dapat dicerna oleh bakteri penghasil H₂ (Husin dkk., 2014).

Untuk dapat menghilangkan hambatan di dalam produksi gas hidrogen, salah satunya dengan cara merekayasa jalur metabolisme melalui penambahan agen radikal bebas yaitu hidrogen peroksida.

Sehingga diharapkan dengan adanya penambahan hidrogen peroksida dapat meningkatkan produksi gas hidrogen.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Bahan

Mikroorganisme yang digunakan dalam penelitian ini adalah konsorsium alami yang diperoleh dari 3 digester biogas berbeda, yakni instalasi pengolahan limbah buah (Pasar Buah Gamping, Yogyakarta), digester biogas kotoran sapi (peternak sapi di daerah Umbulharjo, Cangkringan, Sleman), dan digester biogas limbah tahu (pengrajin tahu di desa Gunung Saren, Srandakan, Bantul). Limbah buah jeruk yang digunakan diperoleh dari Pasar Buah Gemah Ripah, Gamping, Yogyakarta.

2.2 Alat

Alat-alat yang digunakan meliputi, botol vial, fermentor sistem *batch*, *chreamper*, pipet mikro dan tips, inkubator, botol serum 100 mL, *seal* aluminium, *syringe*, tabung *ependof* 5 ml, gas nitrogen, *autoclave*, *Gas Chromatography* (GC), serta peralatan gelas dan lainnya yang digunakan dalam laboratorium kimia.

2.3 Metode Penelitian

- **Pre-treatment Kultur Mikroba Campuran**

Kultur mikroba campuran (kotoran sapi, limbah buah dan limbah tahu) diambil dari digester biogas. Masing-masing kultur mikroba campuran terlebih dahulu masuk dalam tahap *pre-treatment* sebelum digunakan sebagai inokulum untuk fermentasi. Proses *pretreatment* berfungsi untuk menonaktifkan bakteri metanogenik yang bersifat menggunakan H₂ untuk membentuk gas metana.

Mikroba *methanogenik* tidak dapat tumbuh pada pH yang rendah dibawah pH 5. Metode yang digunakan adalah penambahan HCl 2 M ke dalam inokulum sampah buah hingga pH 3 selama 24 jam. Setelah proses tersebut selesai, selanjutnya pH dinaikkan kembali menjadi sekitar 4,5-5 dengan menambahkan NaOH 2 M.

- **Medium Pengkayaan Kultur Mikroba Campuran**

Pembuatan medium pengkayaan bertingkat bertujuan untuk mendapatkan kultur mikrobial campuran yang bersifat stabil. Fermentor yang digunakan ukuran 100ml dengan volume kerja 50

ml. Volume kerja terdiri dari 45 ml larutan nutrisi dan 5 ml inokulum mikroba campuran yang telah diberi perlakuan *pre-treatment*. Medium pengkayaan menggunakan PYG (*pepton-yeast-glucosa*) yang mengandung nutrisi 10 g/L peptone., 10 g/L yeast extract., 0,001 g/L resazurin., 0,5 g/L Lsisteine- HCl., 10 g/L glukosa. Medium dikondisikan pada pH 5 sebelum diinokulasikan dengan inokulum.

- **Prosedur Eksperimen**

Eksperimen dilakukan pada fermentor *batch* volume 100 mL dengan konsentrasi inokulum yang sudah diberi perlakuan (5 mL), substrat buah jeruk 15 mL, dan 30 mL larutan stok nutrisi (Gambar 1). Volume kerja yang digunakan sebanyak 50 ml dalam botol 100 ml fermentor. Fermentor di inkubasi pada suhu optimal 37°C dan pH dikondisikan pada pH 5.



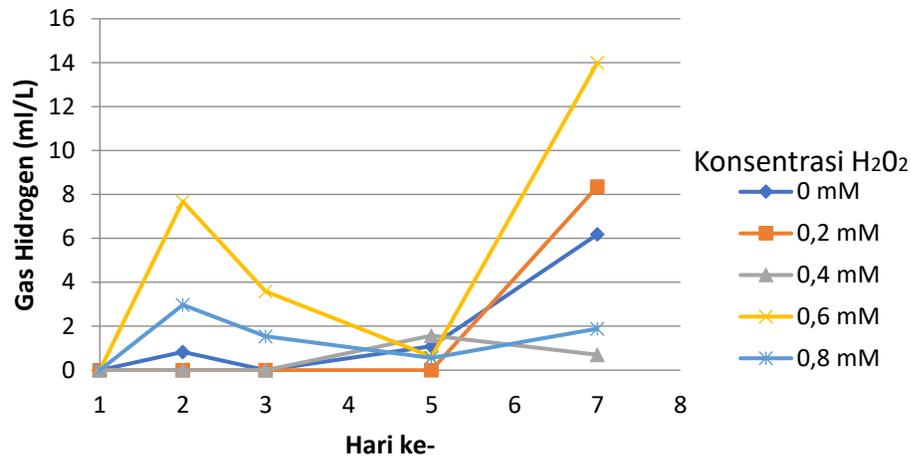
Gambar 1. Fermentor Berisi Limbah Buah Jeruk dan Mikrobia Campuran

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Produksi Gas Hidrogen

Dalam penelitian ini, dilakukan uji terhadap produksi gas hidrogen yang dihasilkan dari proses fermentasi gelap. Hasil dari produksi gas hidrogen dapat dilihat pada Gambar 2. Produksi gas hidrogen yang paling tinggi pada hari ke 7 yaitu 14 mL/L. Hal ini menunjukkan perbedaan pada penelitian yang dilakukan oleh Kharisma, 2015 yang menyatakan bahwa produksi hidrogen tertinggi dihasilkan pada hari pertama. Hal ini dikarenakan pada penelitian sebelumnya tidak menggunakan *buffer* untuk mempertahankan pH substrat, pada penelitian ini dilakukan penambahan *buffer* berupa kulit telur (Stefany, 2015) sehingga pH tiap fermentor tetap konstan yaitu berada pada rentang pH 4,5-5,5. Hal ini sesuai dengan derajat keasaman optimum untuk menghasilkan gas H₂ dari karbohidrat yaitu pada kisaran pH sekitar 4,5-6,0 (Wei dkk.,2010)

karena itu pada rentang pH tersebut bakteri penghasil hidrogen membutuhkan waktu yang cukup lama sehingga produksi gas hidrogen mengalami perlambatan.



Gambar 2. Gas hidrogen yang dihasilkan selama proses fermentasi oleh mikroba campuran

3.2 Pengaruh Penambahan H₂O₂ Pada Gas Hidrogen

Dalam penelitian ini, dilakukan penambahan H₂O₂ pada gas hidrogen. Berdasarkan hasil analisa *Gas Chromatography* (GC), dapat diketahui produksi gas hidrogen selama 7 hari yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Produksi gas yang dihasilkan dalam proses fermentasi selama 7 hari menggunakan mikroba campuran

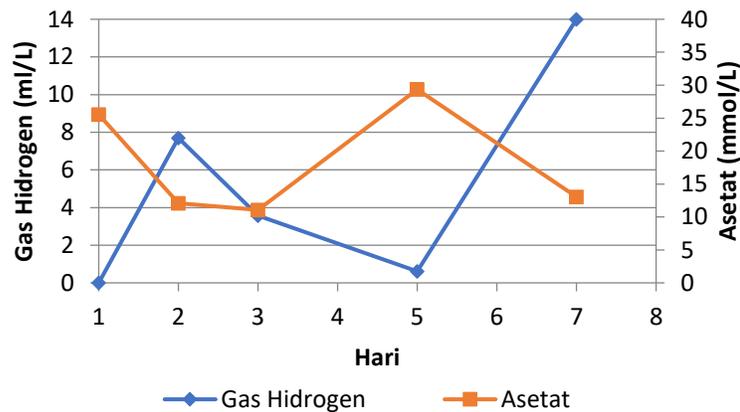
Konsentrasi H ₂ O ₂	Total Gas (mL/L)	Yield H ₂ (mL.g/VS)
0 mM	8,116	112,97
0,2 mM	8,363	160,83
0,4 mM	2,269	121,99
0,6 mM	25,877	801,14
0,8 mM	6,963	440,7

Dari hasil yang telah diperoleh, dapat diketahui bahwa penambahan konsentrasi H₂O₂ cukup memberikan nilai yang signifikan terhadap produksi gas hidrogen yaitu pada konsentrasi 0,6 dan 0,8 mM yang menghasilkan *yield* hidrogen 801,14 dan 440,7 mL.g/VS. Hal ini menunjukkan bahwa pada pemberian H₂O₂ pada kadar tertentu dapat memberikan nilai yang baik dalam

pembentukan gas hidrogen, akan tetapi jika terlalu tinggi maka akan mengakibatkan penurunan jumlah gas hidrogen.

3.3 Pengaruh Penambahan H₂O₂ Pada Asam Organik Terhadap Produksi Gas Hidrogen

Penyebab produksi gas hidrogen yang fluktuatif dapat diidentifikasi dari hubungan antara produksi gas hidrogen dan asam-asam organik. Pada penelitian ini asam organik yang memiliki perbedaan yang cukup signifikan yaitu antara produksi gas hidrogen dengan produksi asam asetat. Dari hasil yang didapat, diketahui bahwa produksi gas hidrogen yang tertinggi berasal dari pemberian konsentrasi H₂O₂ dengan konsentrasi 0,6 mM yang memiliki hasil asam asetat yang rendah. Hubungan antara produksi gas hidrogen dan produksi asetat pada konsentrasi 0,6 mM dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Hubungan antara produksi gas hidrogen dan produksi asetat pada konsentrasi 0,6 Mm

Dari Gambar 3 di atas, dapat diketahui bahwa asetat memiliki pengaruh terhadap produksi gas hidrogen yang mana produksi gas hidrogen akan meningkat jika produksi asetat kecil. Hal ini sesuai dengan penelitian Ren dkk (2006) yang menyatakan bahwa asetat merupakan salah satu senyawa yang dapat menghambat produksi gas hidrogen.

4. Kesimpulan

Penambahan H₂O₂ pada limbah buah jeruk oleh mikroba dari digester biogas dapat meningkatkan *yield* gas hidrogen yaitu sebesar 801,14 mL.g/VS dan konsentrasi optimum penambahan H₂O₂ yaitu pada konsentrasi 0,6 mM (30 µl H₂O₂/15 ml limbah buah jeruk), sedangkan pada konsentrasi

0,8 mM (40 μ l H₂O₂/15 ml limbah buah jeruk) terjadi penurunan produksi gas hidrogen, sehingga semakin tinggi penambahan konsentrasi H₂O₂ akan menurunkan produksi gas hidrogen. Produksi gas hidrogen yang paling tinggi yaitu pada hari ke-7, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan variasi hari yang lebih lama dan Perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk dapat menghilangkan atau mengurangi kadar limonen yang dapat menghambat produksi gas hidrogen.

DAFTAR PUSTAKA

- Chang, R.C dan Lin, Y.C. (2004). Fermentative Hydrogen Production at Ambient Temperature. *International Journal Hydrogen Energy*, 29: 715-720
- Husin, Amir., Sarto., Syamsiah, Siti dan Parasetyo, Imam. (2014). Produksi Biohidrogen dari Hidrolisat Ampas Tahu Secara Fermentasi Anaerob Menggunakan Kultur Campuran, *Reaktor*, 15(2) : 87-96.
- Kim, J.O., Kim, Y.H., Yeom, S. H., Song, B.K dan Kim, I.H. (2006). Enhancing Continuous Hydrogen Gas Production by the Addition of Nitrate Into an Anaerobic Reactor. *Process Biochem*, 41:1208-1212
- Das, Debratas dan T. Nejat Veziroglu. (2008). Advance in Biological Hydrogen Production Processes. *International Journal of Hydrogen Energy*, 33 : 6046-6057
- Elsharnouby, O., Hafez, H. Nakhla, G dan El Naggat, MH. (2013). A Critical Literature Review on Biohydrogen Production by Pure Cultures. *Internation Journal Hydrogen Energy* 38 : 4945-4966
- Kim, M.S dan Lee, D. Y. (2010). Fermentative Hydrogen Production from Tofu Processing Waste and Anaerobic Digester Sludge Using Microbial Consortium, *Bioresource Technology*, 101:S48-S52
- Kapdan, I. K dan F. Kargi. (2006). Bio-hydrogen Production from Waste Materials. *Enzyme and Microbial Technology*, 38:569-582
- Kharisma, Agung Dian. (2015). Pengaruh Hidrogen Peroksida terhadap Produksi Hidrogen Dari Limbah Buah Melon: Cucumis Melo L.) Oleh Mikroba Digester Biogas. *Tesis*, Pascasarjana Universitas Gadjah Mada

- Stefany, Windy. (2015). Produksi Biogas Dari Campuran Sampah Buah Dengan Perlakuan Awal Distilasi Uap. *Tesis*, Pascasarjana Universitas Gadjah Mada
- Wei, Juan., Liu, Zuo-Tao dan Zhang, Xin. (2010). Biohydrogen Production from Starch Wastewater and Application in Fuel Cell. *Int J Hydrogen Energy*, 35(29): 49-52
- Ren, N dan Gong, M L.(2006). Characteristics and Operation of Enhanced Continuous Bio-Hydrogen Production Reactor Using Support Carrier, *NCBI Journal* 9